

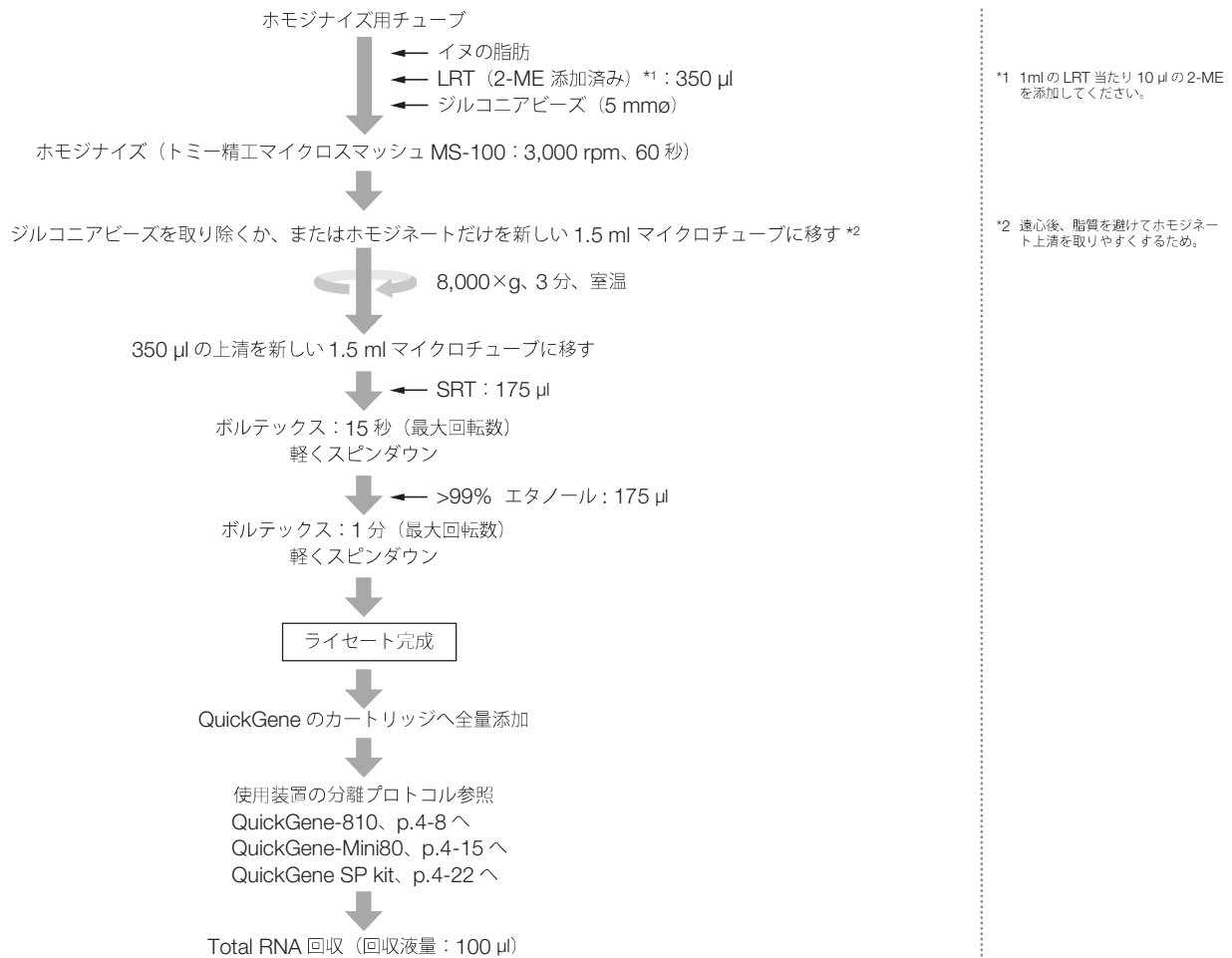
3-XI-ii 章

動物組織からの total RNA分離

RA-b-1

イヌの脂肪組織からの total RNA分離

プロトコル



結果

イヌあるいはネコの脂肪組織から total RNA を分離した。

電気泳動図

データなし

Total RNA の収量

| 組織の量 | QuickGene (µg) | 競合 A 社キット (µg) |
|--------|----------------|----------------|
| 30 mg | 0.5 | 0.8 |
| 100 mg | 2.3 | - |
| 200 mg | 4.6 | 4.2 |
| 400 mg | 28.0 | - |

タンパク質の混入 : A260/280

| 組織の量 | QuickGene (µg) | 競合 A 社キット (µg) |
|--------|----------------|----------------|
| 30 mg | 1.88 | 1.58 |
| 100 mg | 2.12 | - |
| 200 mg | 2.16 | 2.17 |
| 400 mg | 2.00 | - |

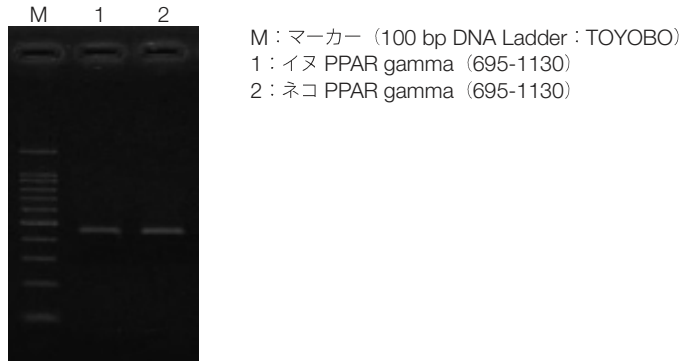
■ カオトロピック塩の混入：A260/230

データなし

■ その他

• RT-PCR

QuickGene システムを用いて、イヌやネコの脂肪組織から分離された total RNA に対して、イヌ PPAR gamma (695-1130) あるいはネコ PPAR gamma (695-1130) に対する RT-PCR 増幅を ReverTra Ace (TOYOBO) を用いて行った。



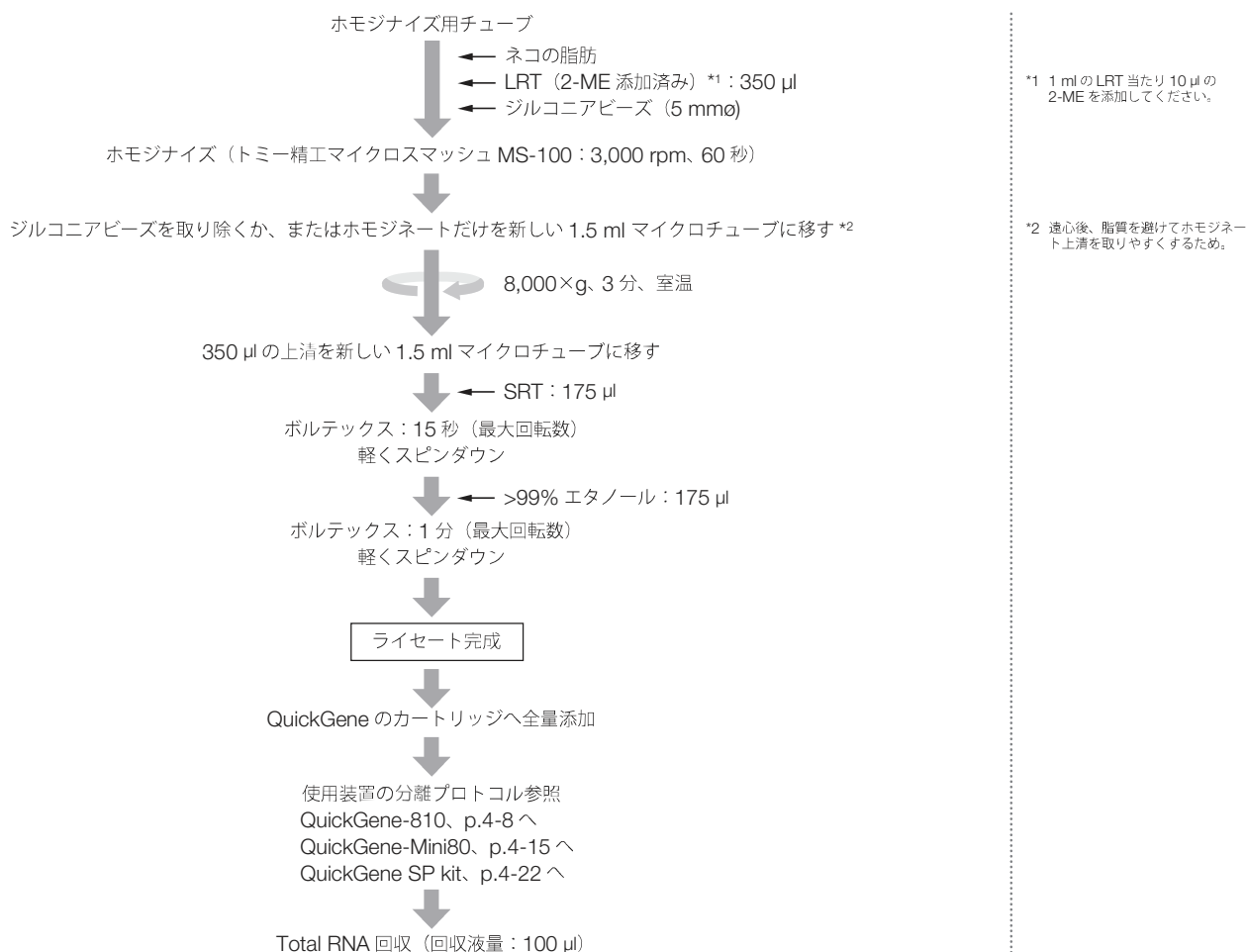
■ 共通プロトコルサンプル

イヌの皮膚、ネコの脂肪組織

RA-b-2

ネコの脂肪組織からの total RNA分離

プロトコル



結果

イヌあるいはネコの脂肪組織から total RNA を分離した。

電気泳動図

データなし

Total RNA の収量

| 組織の量 | QuickGene (µg) | 競合 A 社キット (µg) |
|--------|----------------|----------------|
| 30 mg | 0.5 | 0.8 |
| 100 mg | 2.3 | - |
| 200 mg | 4.6 | 4.2 |
| 400 mg | 28.0 | - |

タンパク質の混入 : A260/280

| 組織の量 | QuickGene (µg) | 競合 A 社キット (µg) |
|--------|----------------|----------------|
| 30 mg | 1.88 | 1.58 |
| 100 mg | 2.12 | - |
| 200 mg | 2.16 | 2.17 |
| 400 mg | 2.00 | - |

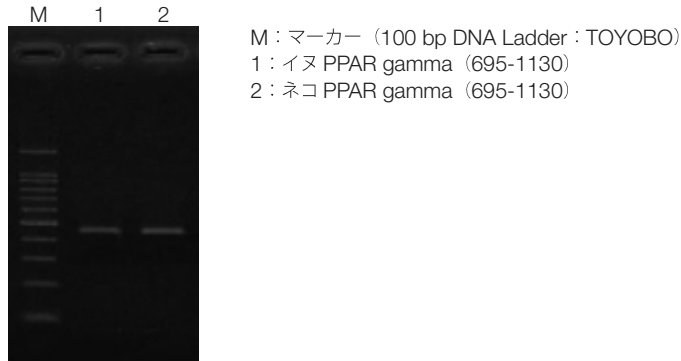
■ カオトロピック塩の混入：A260/230

データなし

■ その他

• RT-PCR

QuickGene システムを用いて、イヌやネコの脂肪組織から分離された total RNA に対して、イヌ PPAR gamma (695-1130) あるいはネコ PPAR gamma (695-1130) に対する RT-PCR 増幅を ReverTra Ace (TOYOBO) を用いて行った。



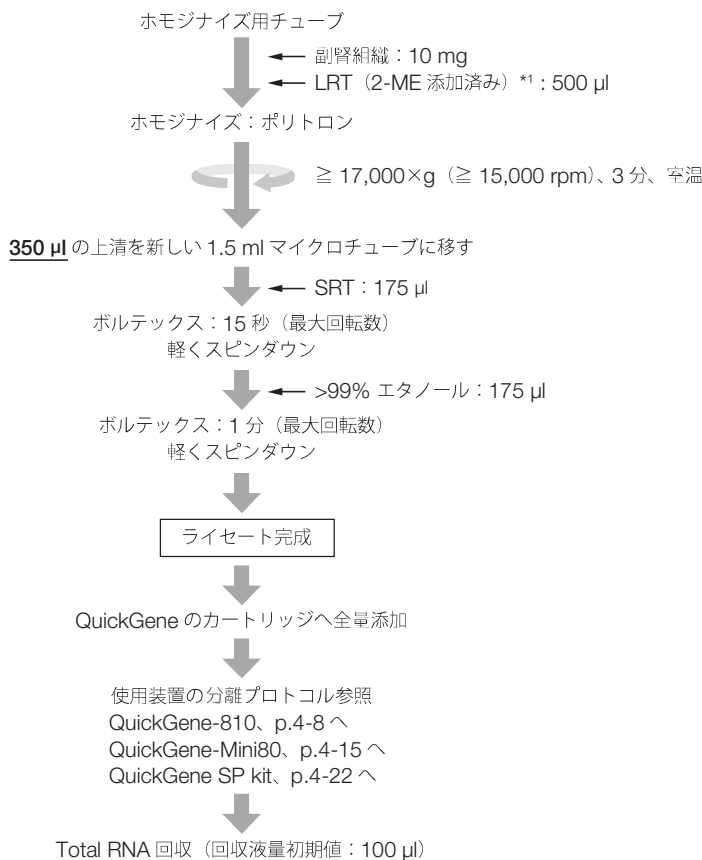
■ 共通プロトコルサンプル

イヌの皮膚、イヌの脂肪組織

RA-b-3

マウスの副腎からの total RNA分離

プロトコル



*1 1 ml の LRT 当たり 10 µl の 2-ME を添加してください。

結果

電気泳動図

データなし

Total RNA の収量

| 副腎の量 | 収量 (µg) |
|---------|---------|
| 約 10 mg | 1.0 |

タンパク質の混入：A260/280

| 副腎の量 | A260/280 |
|---------|----------|
| 約 10 mg | 1.5 |

カオトロピック塩の混入：A260/230

データなし

その他

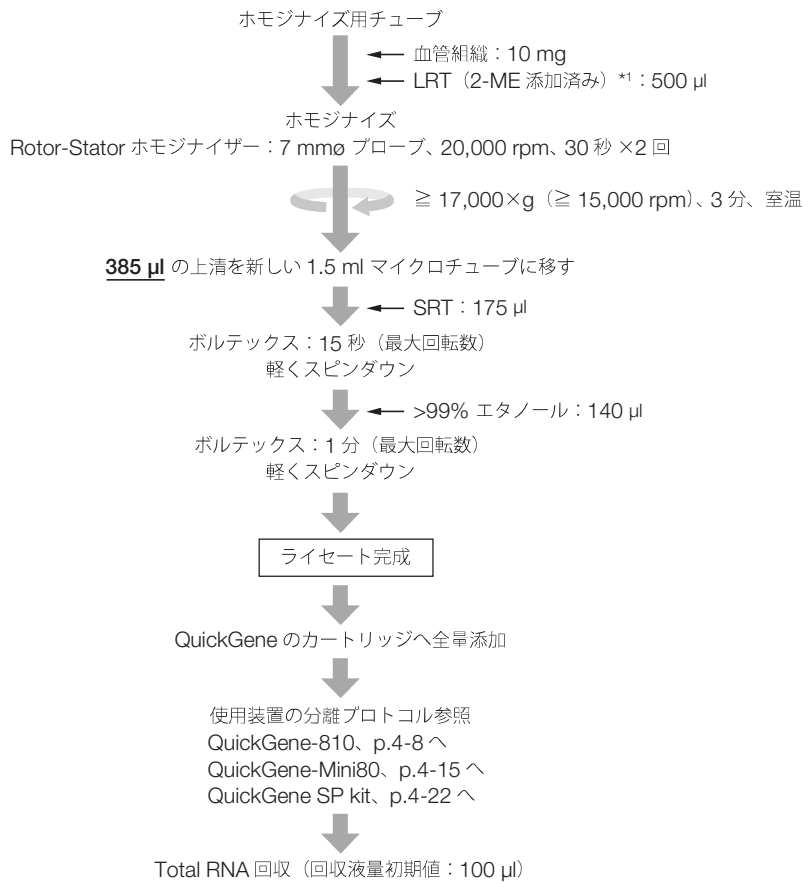
データなし

共通プロトコルサンプル

データなし

ウサギの血管からの total RNA分離

■ プロトコル

*1 1 ml の LRT 当たり 10 μ l の
2-ME を添加してください。

■ 結果

■ 電気泳動図

データなし

■ Total RNA の収量

| 血管の量 | 収量 (μ g) |
|-------|---------------|
| 10 mg | 1.0 |

■ タンパク質の混入：A260/280

データなし

■ カオトロピック塩の混入：A260/230

データなし

■ その他

データなし

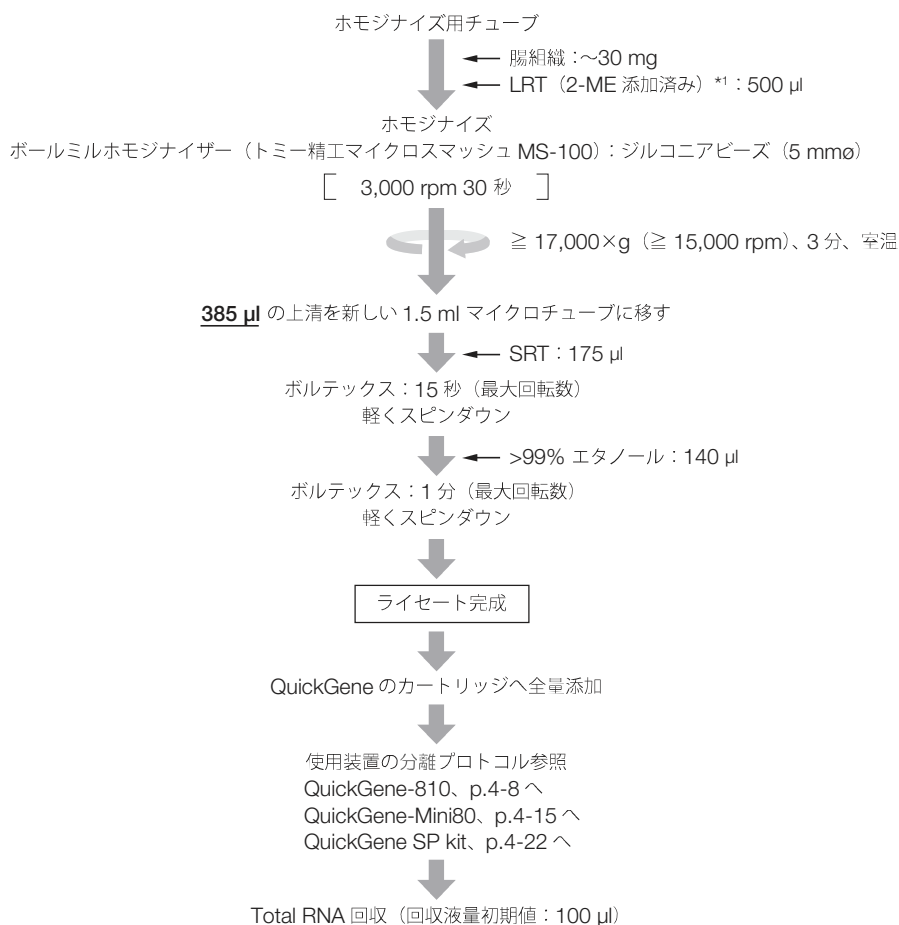
■ 共通プロトコルサンプル

データなし

RA-b-5

ネコの腸からの total RNA分離

プロトコル



*1 1 ml の LRT 当たり 10 µl の 2-ME を添加してください。

結果

電気泳動図
データなし

Total RNA の収量

| 腸の量 | 収量 (µg) |
|-------|---------|
| 30 mg | 13.8 |

タンパク質の混入：A260/280

| 腸の量 | A260/280 |
|-------|----------|
| 30 mg | 1.78 |

カオトロピック塩の混入：A260/230

データなし

その他

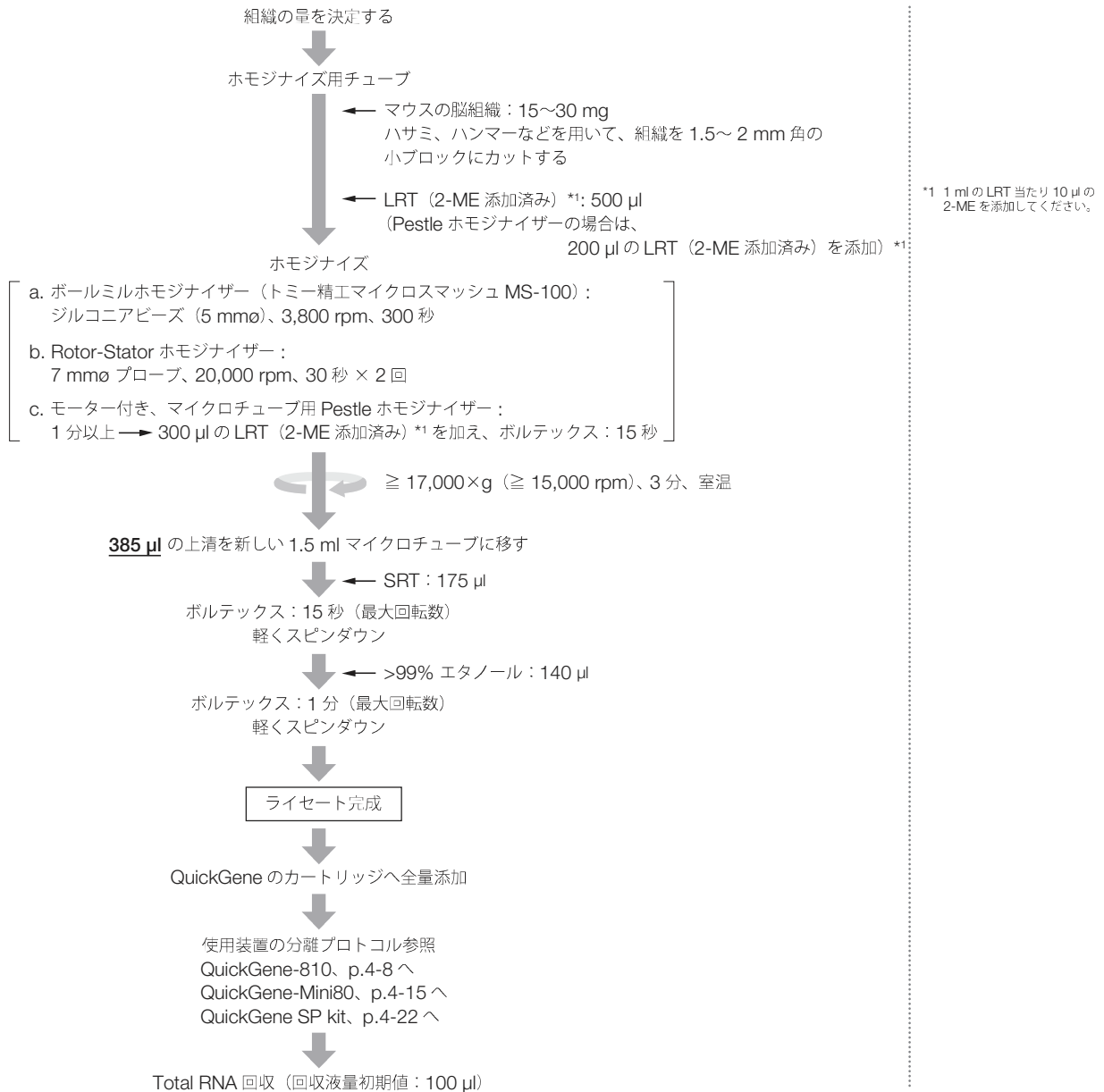
データなし

共通プロトコルサンプル

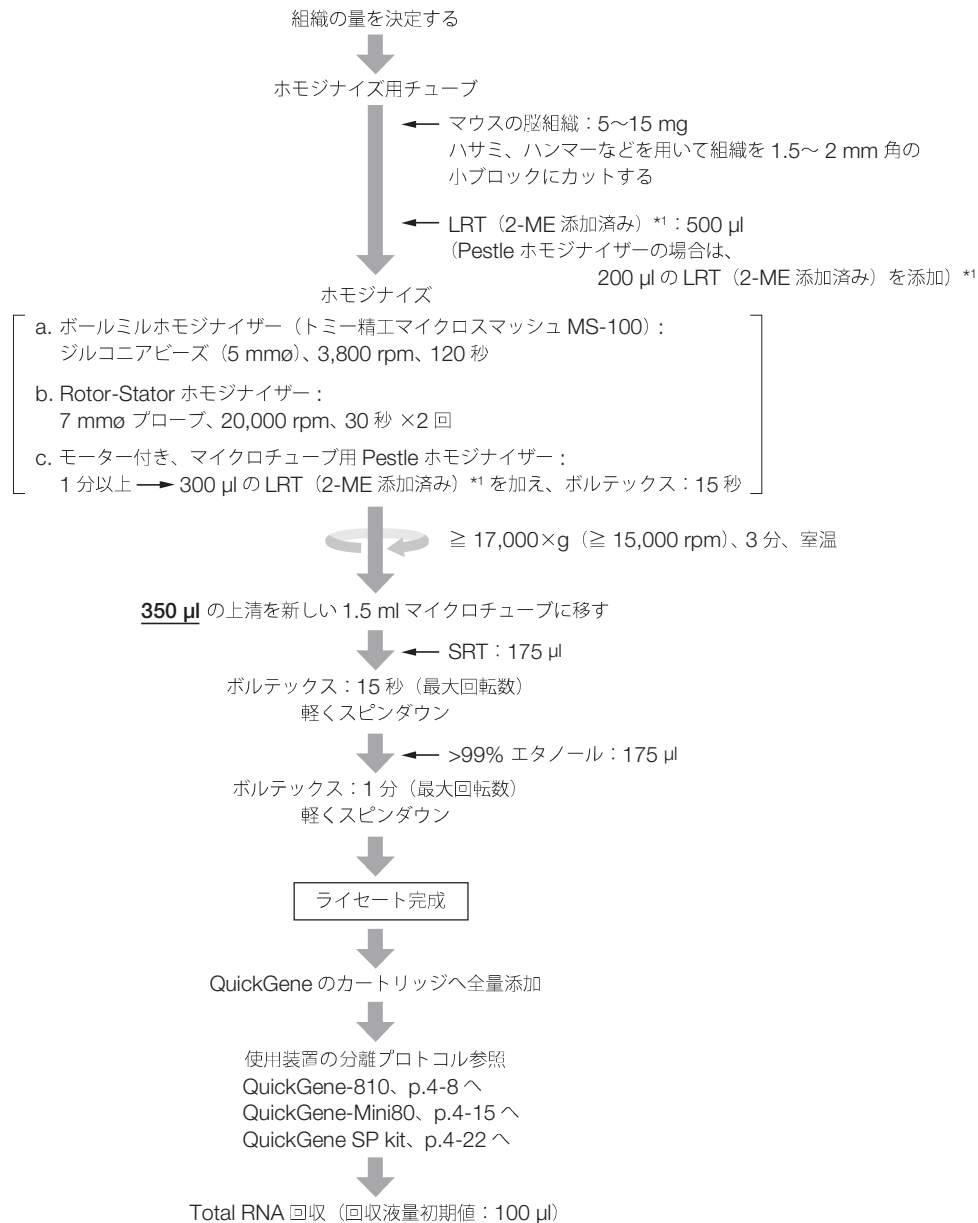
データなし

マウスの脳からの total RNA分離

| プロトコル 1 (15-30 mg)



プロトコル 2 (5-15 mg)

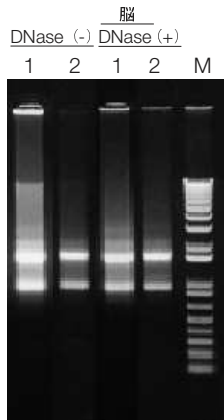


*1 1 ml の LRT 当たり 10 μ l の 2-ME を添加してください。

結果

電気泳動図

QuickGene システム（ボールミルホモジナイザーを用いて）と競合 A 社キット（スピンカラム法を用いて）、マウス脳組織から分離された total RNA で、非変性アガロースゲル電気泳動を行った。



M：マーカー（1 kb PLUS DNA Ladder：Invitrogen）
1：QuickGene（MS-100 を用いて）
2：競合 A 社キット（スピンカラム法）

< 電気泳動条件 >
1% アガロース / 1 × TAE

Total RNA の収量

| 組織 | ボールミルホモジナイザー（MS-100） | | | Rotor-Stator ホモジナイザー | | |
|----|----------------------|-----------|-----------|----------------------|-----------|-----------|
| | 組織量 | DNase (+) | DNase (-) | 組織量 | DNase (+) | DNase (-) |
| 脳 | 40 mg | 21 µg | 21 µg | 40 mg | 20 µg | 21 µg |

タンパク質の混入：A260/280

| 組織 | 組織量 | A260/280 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 脳 | 40 mg | 2.11 | 2.17 |

カオトロピック塩の混入：A260/230

| 組織 | 組織量 | A260/230 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 脳 | 40 mg | 2.11 | 1.95 |

その他

• RT-PCR

QuickGene システム（ボールミルホモジナイザーを用いて）と競合 A 社キット（スピンカラム法）を用いて分離された total RNA に対して RT-PCR を行った。

< 室温反応条件 >
テンプレート：マウス脳からの Total RNA（DNase 処理あり）500 ng
酵素：SuperScript II（Invitrogen）

< PCR 条件 >
テンプレート：Total RNA（10 pg/µl）相当量の cDNA
プライマー：G3PDH プライマー
酵素：Takara Taq Hot Start Version（TaKaRa）



< 電気泳動条件 >
1% アガロース / 1 × TAE

M：マーカー（100 bp DNA Ladder：Invitrogen）
1：QuickGene
2：競合 A 社キット（スピンカラム法）

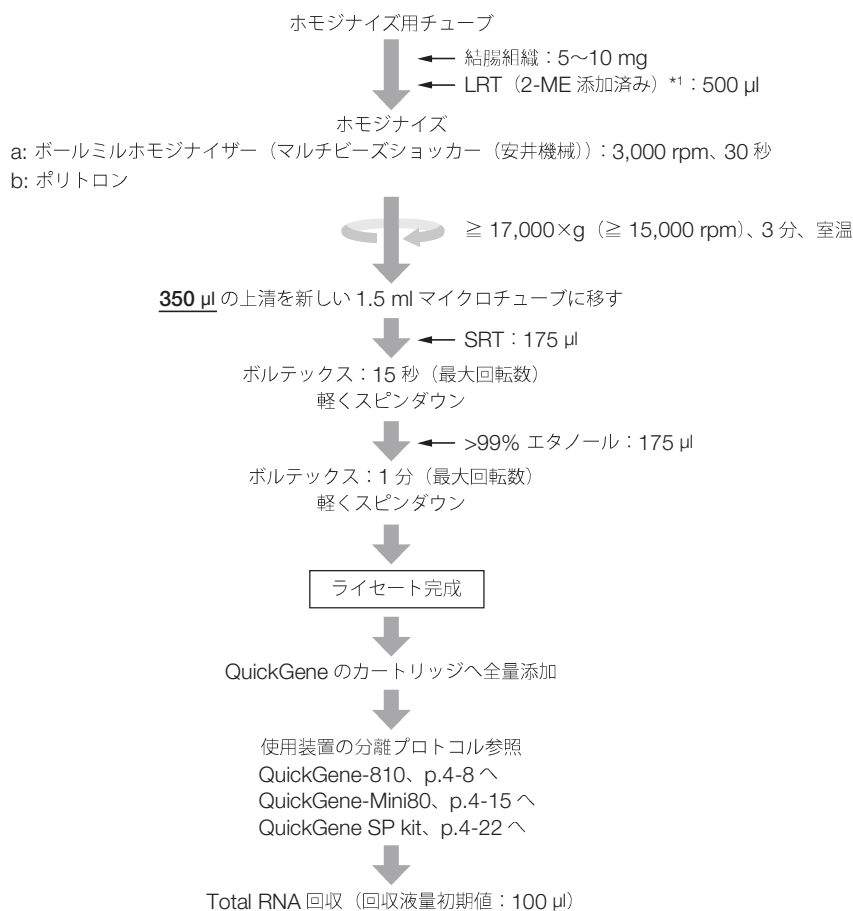
共通プロトコルサンプル

マウス精巣、マウス肝臓、マウス肺、マウス腎臓、マウス脾臓

RA-b-7

マウスの結腸からの total RNA分離

プロトコル



*1 1 ml の LRT 当たり 10 µl の 2-ME を添加してください。

結果

■ 電気泳動図
データなし

■ Total RNA の収量

| 結腸の量 | 収量 (µg) |
|-----------|---------|
| a：約 5 mg | 約 8.0 |
| b：約 10 mg | 3.0 |

■ タンパク質の混入：A260/280

| 結腸の量 | A260/280 |
|-----------|----------|
| b：約 10 mg | 2.7 |

■ カオトロピック塩の混入：A260/230

データなし

■ その他

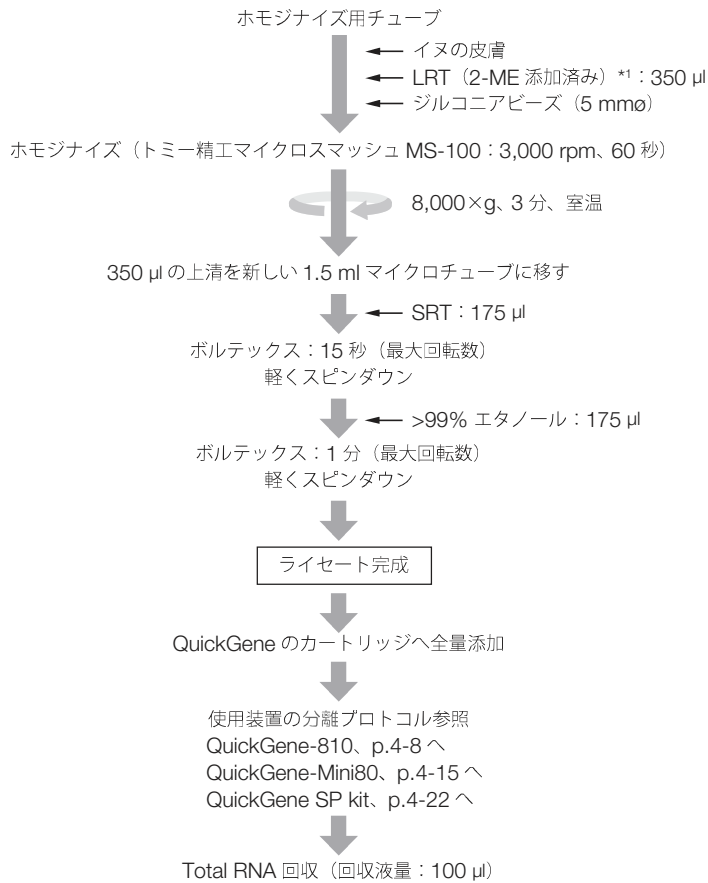
データなし

共通プロトコルサンプル

データなし

イヌの皮膚からの total RNA分離

プロトコル



*1 1 ml の LRT 当たり 10 μ l の 2-ME を添加してください。

結果

電気泳動図

データなし

Total RNA の収量

| 組織の量 | 収量 (μ g) | |
|-------------------|---------------|-----------|
| | QuickGene | 競合 A 社キット |
| 1 mm ² | 検出限界以下 | 検出限界以下 |

タンパク質の混入 : A260/280

データなし

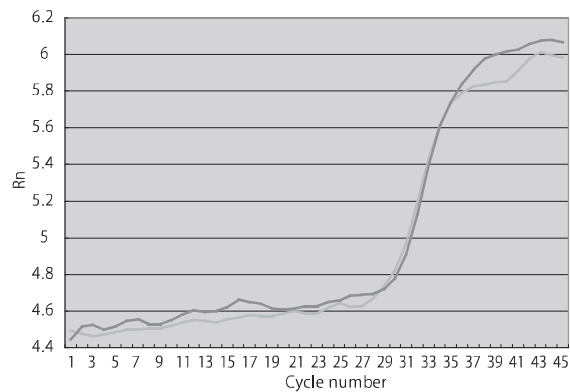
カオトロピック塩の混入 : A260/230

データなし

■ その他

● ワンステップ リアルタイム RT-PCR

イヌの皮膚から分離した total RNA で、QuantiTect プローブ RT-PCR キット (QIAGEN) と ABI PRISM7000 Sequence Detection system (Applied Biosystems) を使用してワンステップリアルタイム RT-PCR を行い、GAPDH を増幅した。



Total RNA の収量は、吸光度計での測定では検出限界以下であったが、ワンステップリアルタイム RT-PCR は非常に良好な結果を示した。

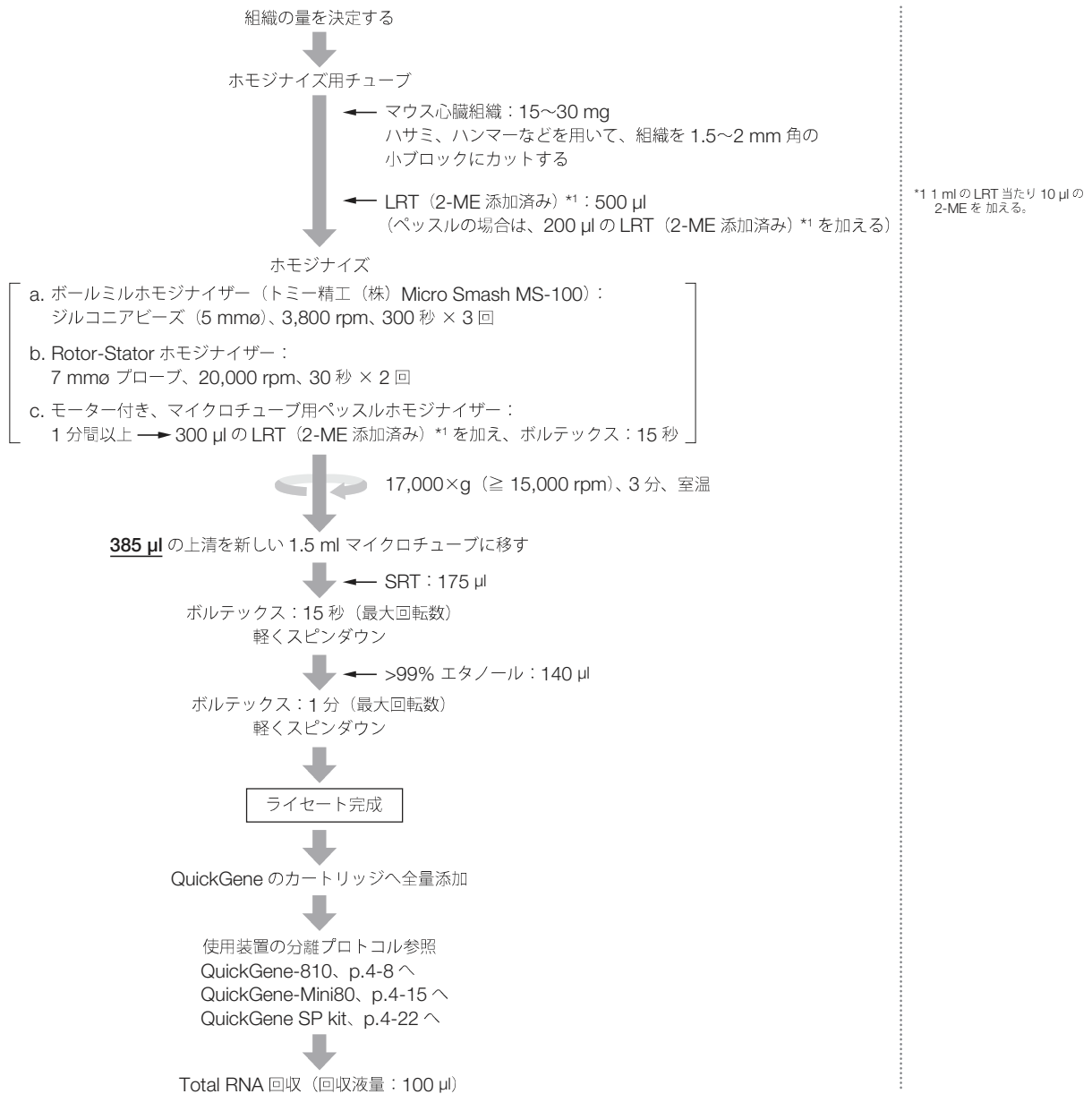
* 両方とも QuickGene システムで分離した total RNA に対するデータである。

■ 共通プロトコルサンプル

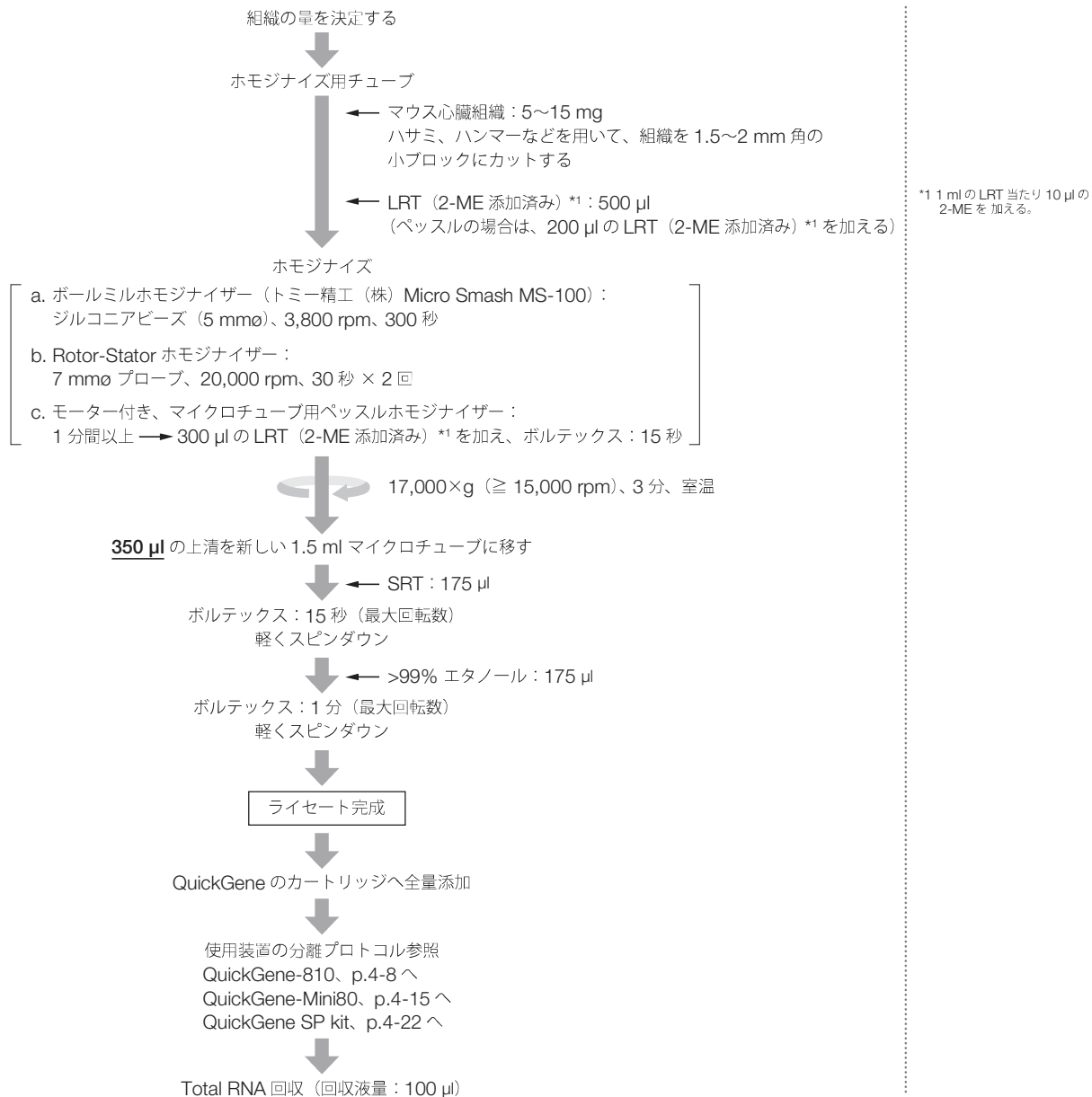
ネコの脂肪組織、イヌの脂肪組織

マウス心臓からの total RNA分離

| プロトコル 1 (15-30 mg)



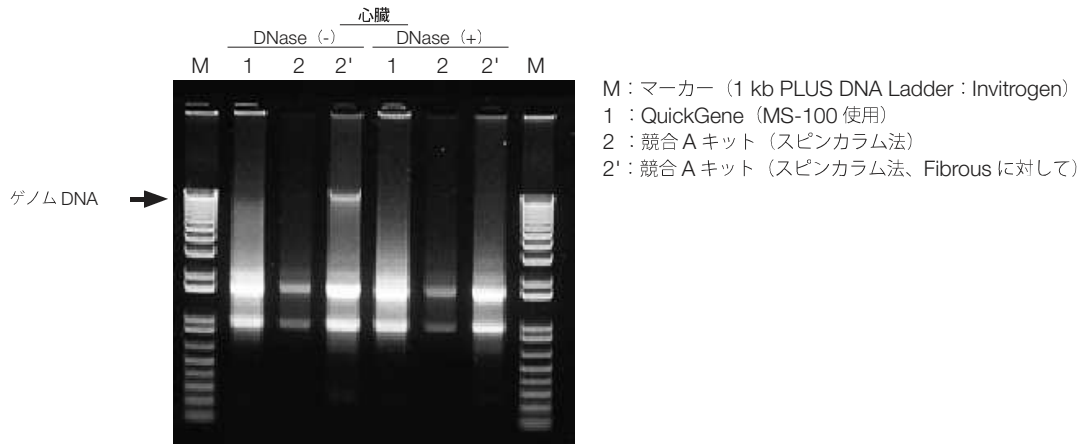
プロトコル 2 (5-15 mg)



結果

電気泳動図

Total RNA で、非変性アガロースゲル電気泳動を行った。
電気泳動条件：1% アガロース / 1 × TAE



心臓に対して、競合 A キット (スピнкаラム法) の場合よりもゲノム DNA 混入の少ない total RNA 分離が QuickGene システムで可能である。

Total RNA の収量

| 組織 | ボールミルホモジナイザー (MS-100) | | | Rotor-Stator ホモジナイザー | | |
|----|-----------------------|-----------|-----------|----------------------|-----------|-----------|
| | 組織の量 | DNase (+) | DNase (-) | 組織の量 | DNase (+) | DNase (-) |
| 心臓 | 30 mg | 21 µg | 23 µg | 5 mg | 4 µg | 4 µg |

タンパク質の混入：A260/280

| 組織 | 組織の量 | A260/280 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 心臓 | 30 mg | 2.37 | 2.33 |

(ボールミルホモジナイザー使用)

カオトロピック塩の混入：A260/230

| 組織 | 組織の量 | A260/230 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 心臓 | 30 mg | 2.18 | 2.16 |

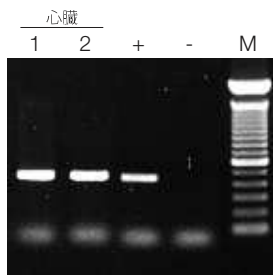
(ボールミルホモジナイザー使用)

その他

• RT-PCR

Total RNA で、RT-PCR を行った。

< RT 反応条件 >
 テンプレート：マウス心臓からの total RNA (DNase 処理あり) 500 ng
 酵素：SuperScript II (Invitrogen)
 < PCR 条件 >
 テンプレート：Total RNA (10 pg/µl) 相当量の cDNA
 プライマー：G3PDH プライマー
 酵素：Takara Taq Hot Start Version (TaKaRa)
 < 電気泳動条件 >
 1% アガロース / 1 × TAE



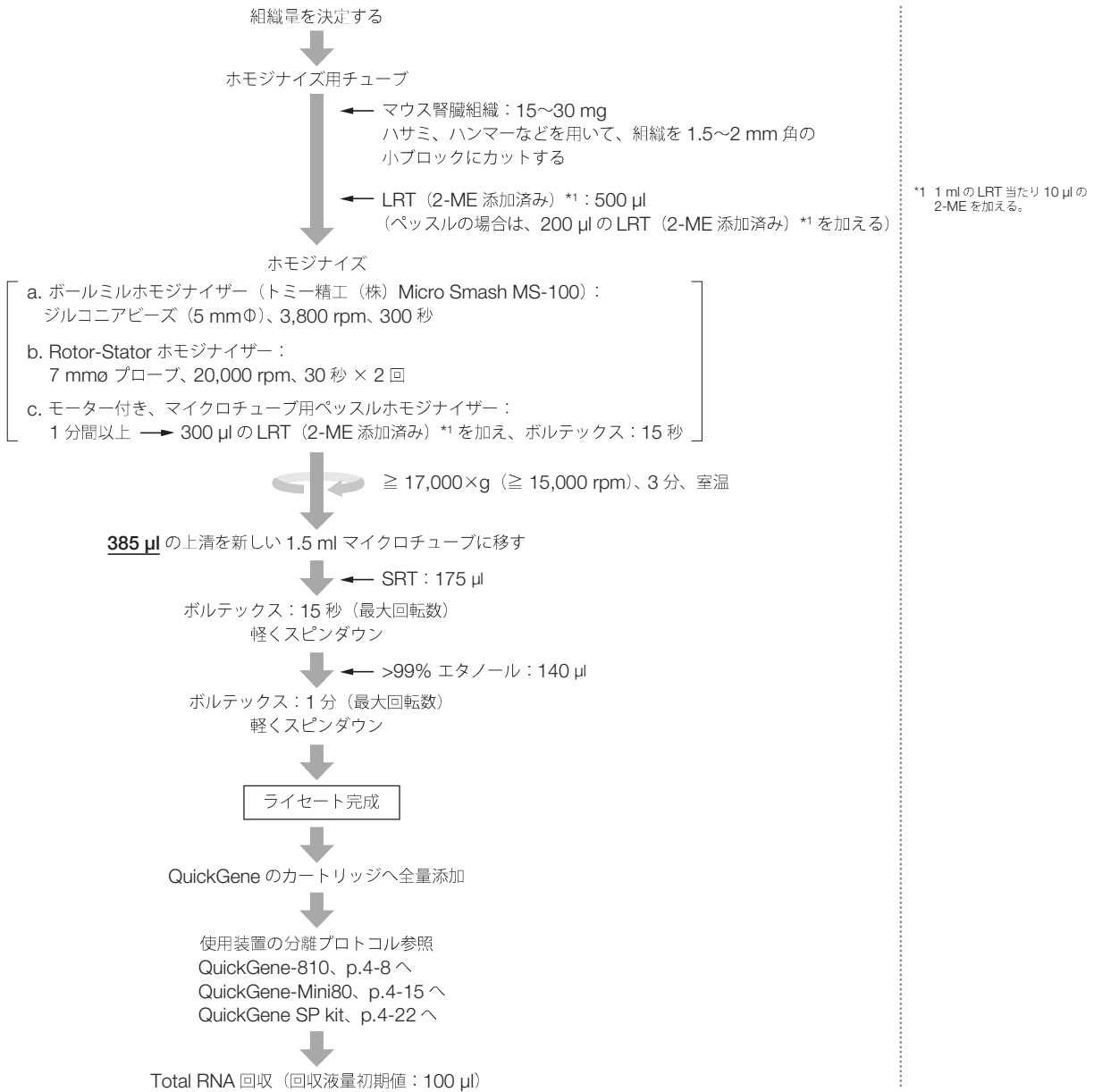
M : マーカー (100 bp DNA Ladder : Invitrogen)
 1 : QuickGene
 2 : 競合 A キット (スピнкаラム法)
 + : ポジティブコントロール (mLiver RNA : Clontech)
 - : ネガティブコントロール (RNase-free water)

共通プロトコルサンプル

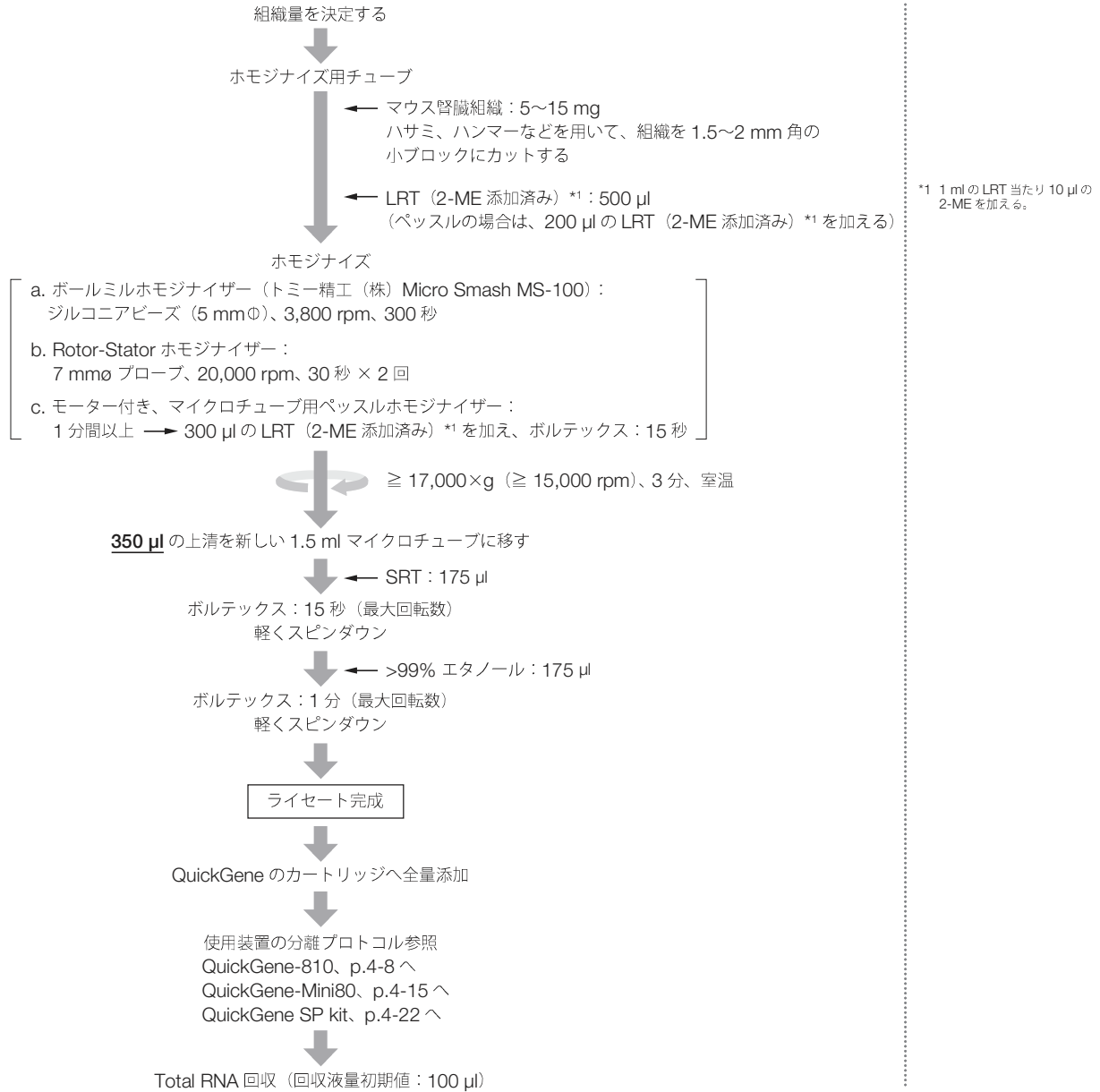
マウス小腸、マウス胃

マウスの腎臓からの total RNA分離

プロトコル 1 (15-30 mg)



プロトコル 2 (5-15 mg)

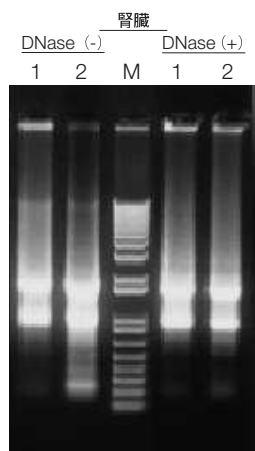


結果

電気泳動図

QuickGene システム（ボールミルホモジナイザー使用）および競合 A キット（スピнкаラム法）を用いてマウス腎臓組織から分離された total RNA で、非変性アガロースゲル電気泳動を行った。

電気泳動条件：1% アガロース / 1 × TAE



M：マーカー（1 kb PLUS DNA Ladder：Invitrogen）
1：QuickGene（MS-100 使用）
2：競合 A キット（スピнкаラム法）

Total RNA の収量

| 組織 | ボールミルホモジナイザー（MS-100） | | | Rotor-Stator ホモジナイザー | | |
|----|----------------------|-----------|-----------|----------------------|-----------|-----------|
| | 組織の量 | DNase (+) | DNase (-) | 組織の量 | DNase (+) | DNase (-) |
| 腎臓 | 30 mg | 55 µg | 54 µg | 5 mg | 16 µg | 13 µg |

タンパク質の混入：A260/280

| 組織 | 組織の量 | A260/280 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 腎臓 | 30 mg | 2.30 | 2.17 |

カオトロピック塩の混入：A260/230

| 組織 | 組織の量 | A260/230 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 腎臓 | 30 mg | 2.21 | 2.09 |

その他

• RT-PCR

QuickGene システム（ボールミルホモジナイザー使用）および競合 A キット（スピнкаラム法）を用いて分離した total RNA で RT-PCR を行った。

< RT 反応条件 >

テンプレート：マウス腎臓からの total RNA（DNase 処理あり）500 ng

酵素：SuperScript II（Invitrogen）

< PCR 条件 >

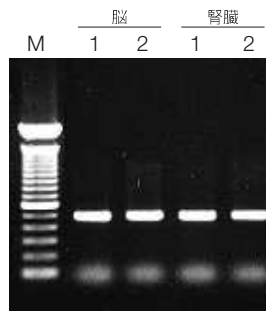
テンプレート：Total RNA（10 pg/µl）相当量の cDNA

プライマー：G3PDH プライマー

酵素：Takara Taq Hot Start Version（TaKaRa）

< 電気泳動条件 >

1% アガロース / 1 × TAE



M：マーカー（100 bp DNA Ladder：Invitrogen）

1：QuickGene

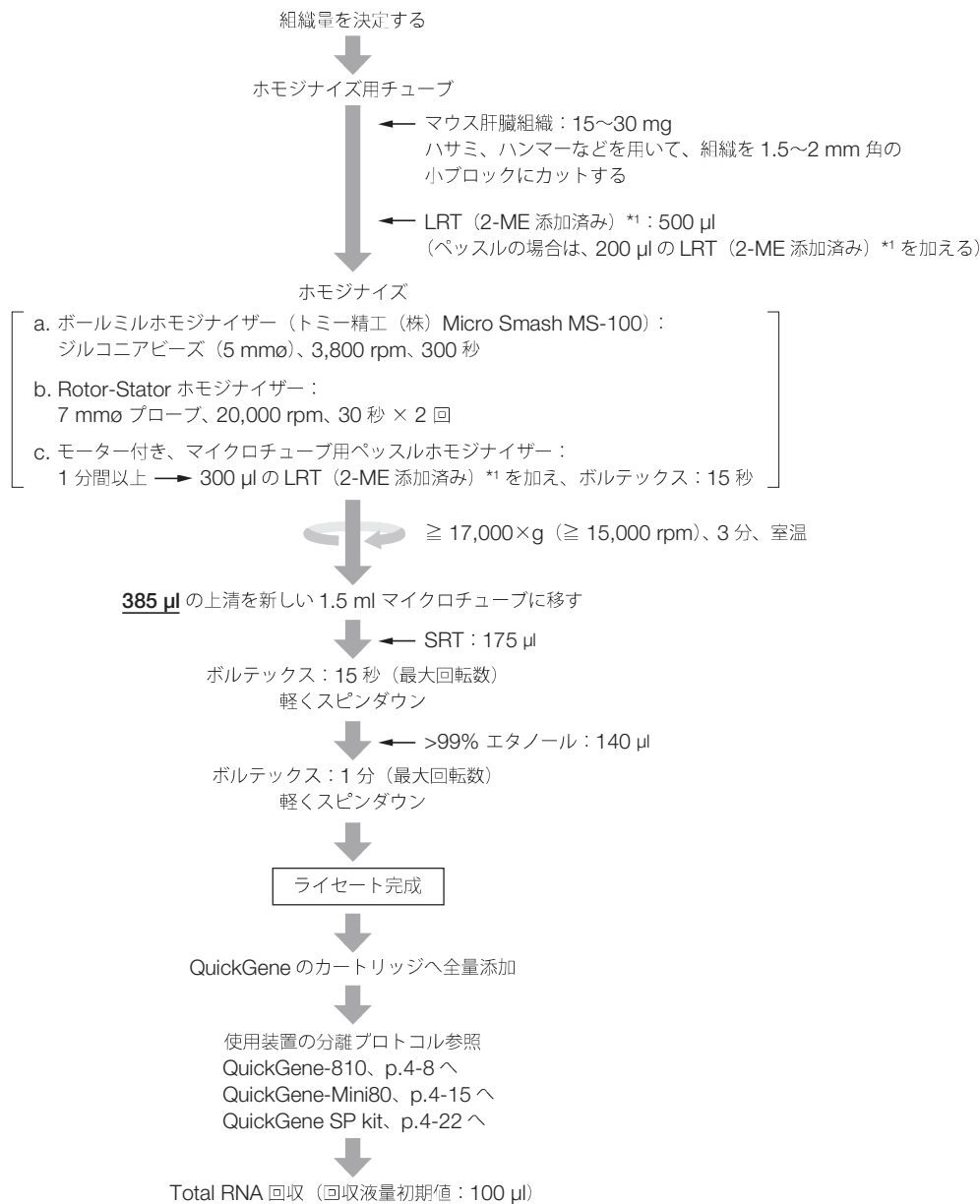
2：競合 A キット（スピнкаラム法）

共通プロトコルサンプル

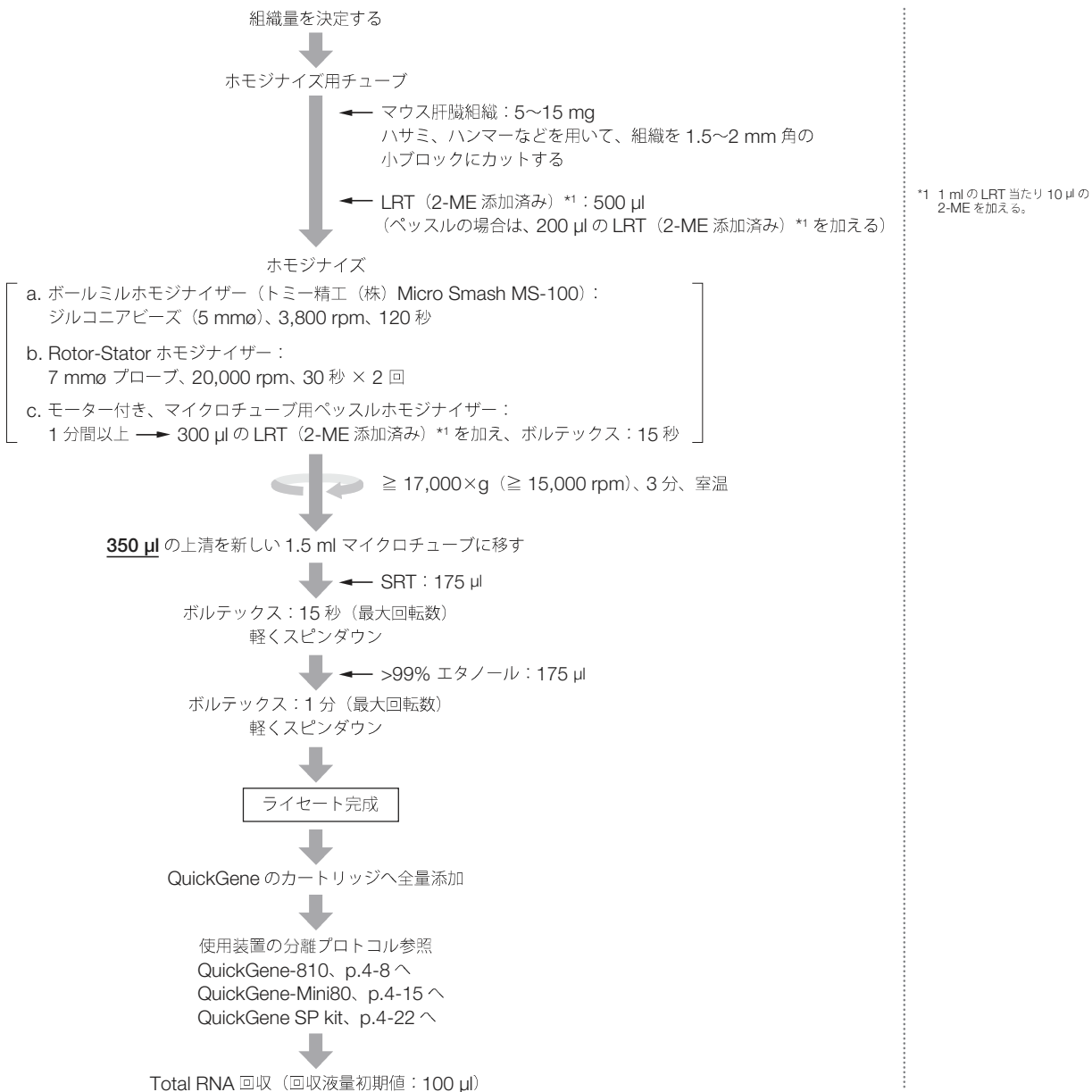
マウス精巣、マウス肝臓、マウス脳、マウス肺、マウス脾臓

マウス肝臓からの total RNA分離

| プロトコル 1 (15-30 mg)

*1 1 ml の LRT 当たり 10 μ l の 2-ME を加える。

プロトコル 2 (5-15 mg)



結果

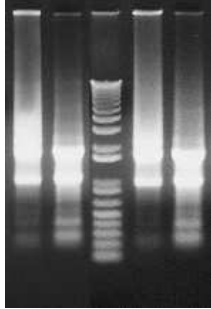
電気泳動図

QuickGene システム（ボールミルホモジナイザー使用）および競合 A キット（スピнкаラム法）を用いてマウスの肝臓組織から分離した total RNA で非変性アガロースゲル電気泳動を行った。

電気泳動条件：1% アガロース / 1 × TAE

肝臓
DNase (-) DNase (+)

1 2 M 1 2



M：マーカー（1 kb PLUS DNA Ladder：Invitrogen）

1：QuickGene（MS-100 使用）

2：競合 A キット（スピнкаラム法）

Total RNA の収量

| 組織 | ボールミルホモジナイザー（MS-100） | | | Rotor-Stator ホモジナイザー | | |
|----|----------------------|-----------|-----------|----------------------|-----------|-----------|
| | 組織の量 | DNase (+) | DNase (-) | 組織の量 | DNase (+) | DNase (-) |
| 肝臓 | 5 mg | 23 µg | 25 µg | 5 mg | 33 µg | 27 µg |
| | 30 mg | 122 µg | 142 µg | 15 mg | 54 µg | 55 µg |

タンパク質の混入：A260/280

| 組織 | 組織の量 | A260/280 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 肝臓 | 5 mg | 2.24 | 2.18 |
| | 30 mg | 2.21 | 2.20 |

カオトロピック塩の混入：A260/230

| 組織 | 組織の量 | A260/230 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 肝臓 | 5 mg | 2.06 | 1.99 |
| | 30 mg | 2.21 | 2.26 |

その他

• RT-PCR

QuickGene システム（ボールミルホモジナイザー使用）および競合 A キット（スピнкаラム法）を用いて分離した total RNA で RT-PCR を行った。

< RT 反応条件 >

テンプレート：マウス肝臓からの total RNA（DNase 処理あり）500 ng

酵素：SuperScript II（Invitrogen）

< PCR 条件 >

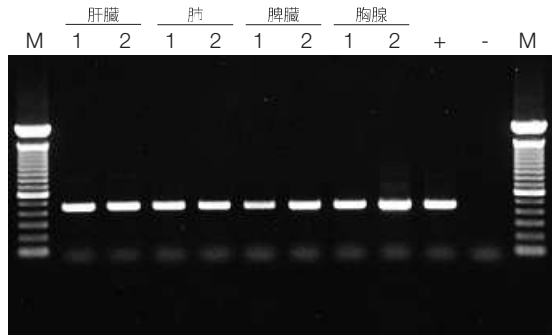
テンプレート：Total RNA（10 µg/µl）相当量の cDNA

プライマー：G3PDH プライマー

酵素：Takara Taq Hot Start Version（TaKaRa）

< 電気泳動条件 >

1% アガロース / 1 × TAE



M：マーカー（100 bp DNA Ladder：Invitrogen）

1：QuickGene

2：競合 A キット（スピнкаラム法）

+: ポジティブコントロール（mLiver RNA：Clontech）

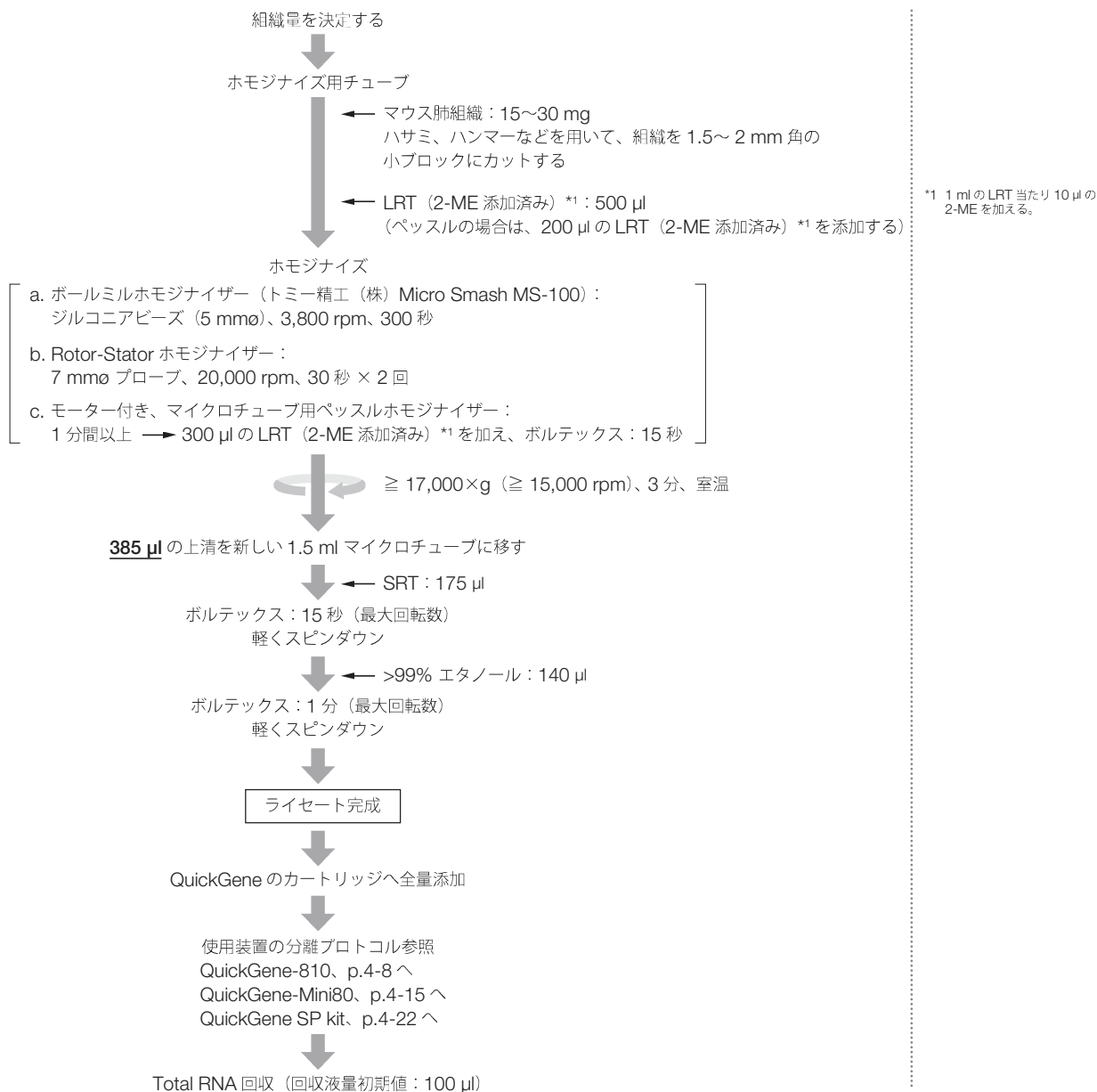
-: ネガティブコントロール（RNase-free water）

共通プロトコルサンプル

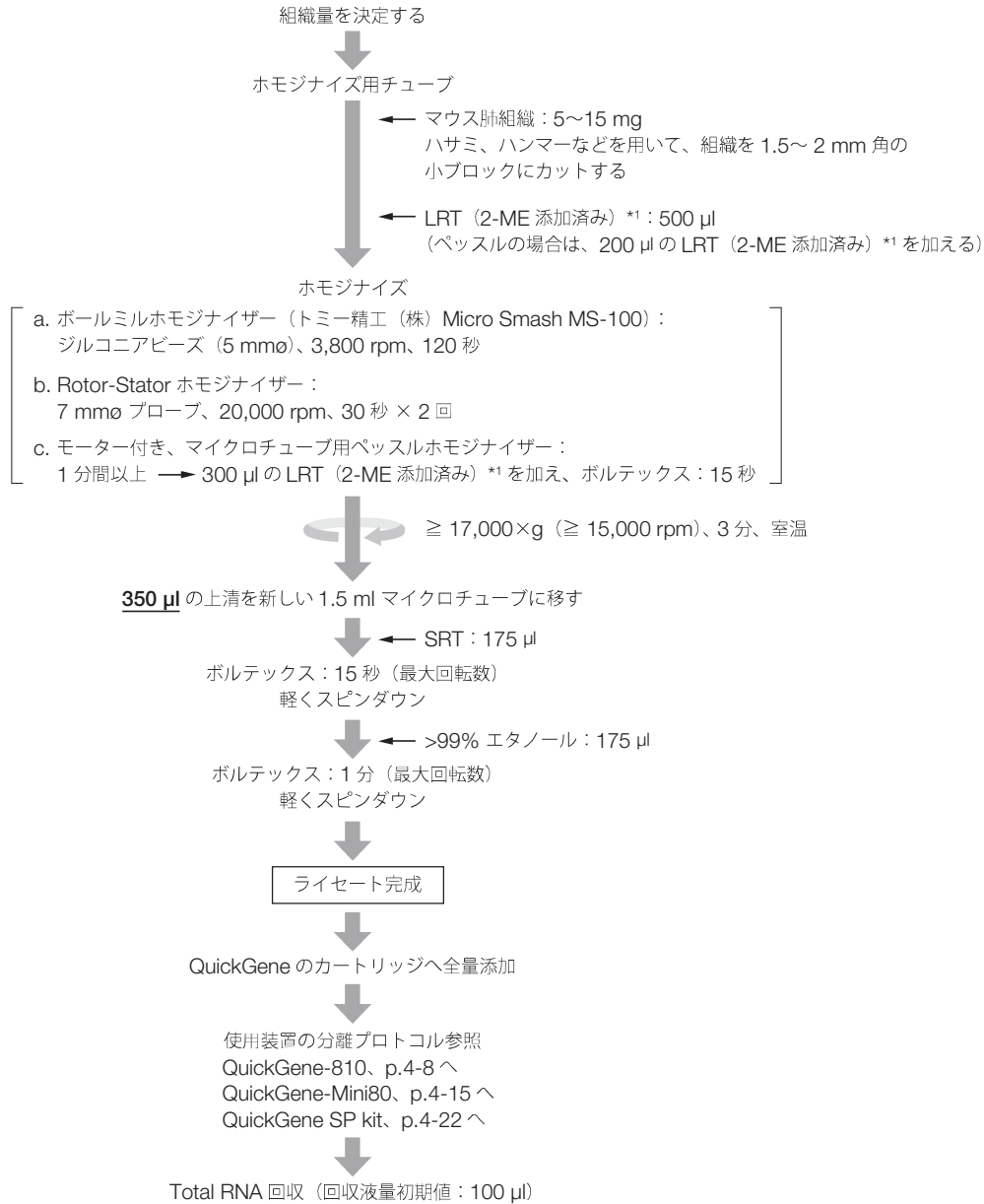
マウス精巣、マウス脳、マウス肺、マウス腎臓、マウス脾臓

マウス肺からの total RNA分離

プロトコル 1 (15-30 mg)



プロトコル 2 (5-15 mg)



*1 1 ml の LRT 当たり 10 μ l の 2-ME を加える。

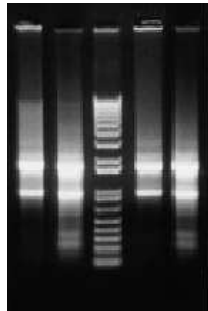
結果

電気泳動図

QuickGene システム（ボールミルホモジナイザー使用）および競合 A キット（スピнкаラム法）を用いてマウスの肺組織から分離した total RNA で非変性アガロースゲル電気泳動を行った。

電気泳動条件：1% アガロース / 1 × TAE

肺
DNase(-) DNase(+)
1 2 M 1 2



M：マーカー（1 kb PLUS DNA Ladder：Invitrogen）

1：QuickGene（MS-100 使用）

2：競合 A キット（スピнкаラム法）

Total RNA の収量

| 組織 | ボールミルホモジナイザー（MS-100） | | | Rotor-Stator ホモジナイザー | | |
|----|----------------------|-----------|-----------|----------------------|-----------|-----------|
| | 組織の量 | DNase (+) | DNase (-) | 組織の量 | DNase (+) | DNase (-) |
| 肺 | 30 mg | 29 µg | 28 µg | 15 mg | 7 µg | 7 µg |

タンパク質の混入：A260/280

| 組織 | 組織の量 | A260/280 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 肺 | 30 mg | 2.18 | 2.19 |

カオトロピック塩の混入：A260/230

| 組織 | 組織の量 | A260/230 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 肺 | 30 mg | 2.16 | 2.05 |

その他

● RT-PCR

QuickGene システム（ボールミルホモジナイザー使用）および競合 A キット（スピнкаラム法）を用いて分離した total RNA で RT-PCR を行った。

< RT 反応条件 >

テンプレート：マウス肺からの total RNA（DNase 処理あり）500 ng

酵素：SuperScript II（Invitrogen）

< PCR 条件 >

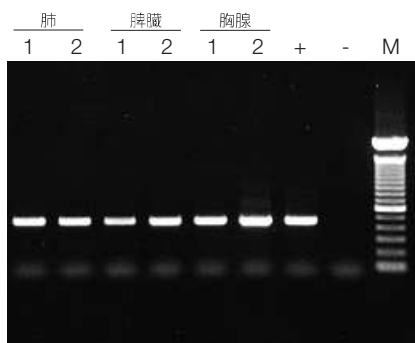
テンプレート：Total RNA（10 pg/µl）相当量の cDNA

プライマー：G3PDH プライマー

酵素：Takara Taq Hot Start Version（TaKaRa）

< 電気泳動条件 >

1% アガロース / 1 × TAE



M：マーカー（100 bp DNA Ladder：Invitrogen）

1：QuickGene

2：競合 A キット（スピнкаラム法）

+：ポジティブコントロール（mLiver RNA：Clontech）

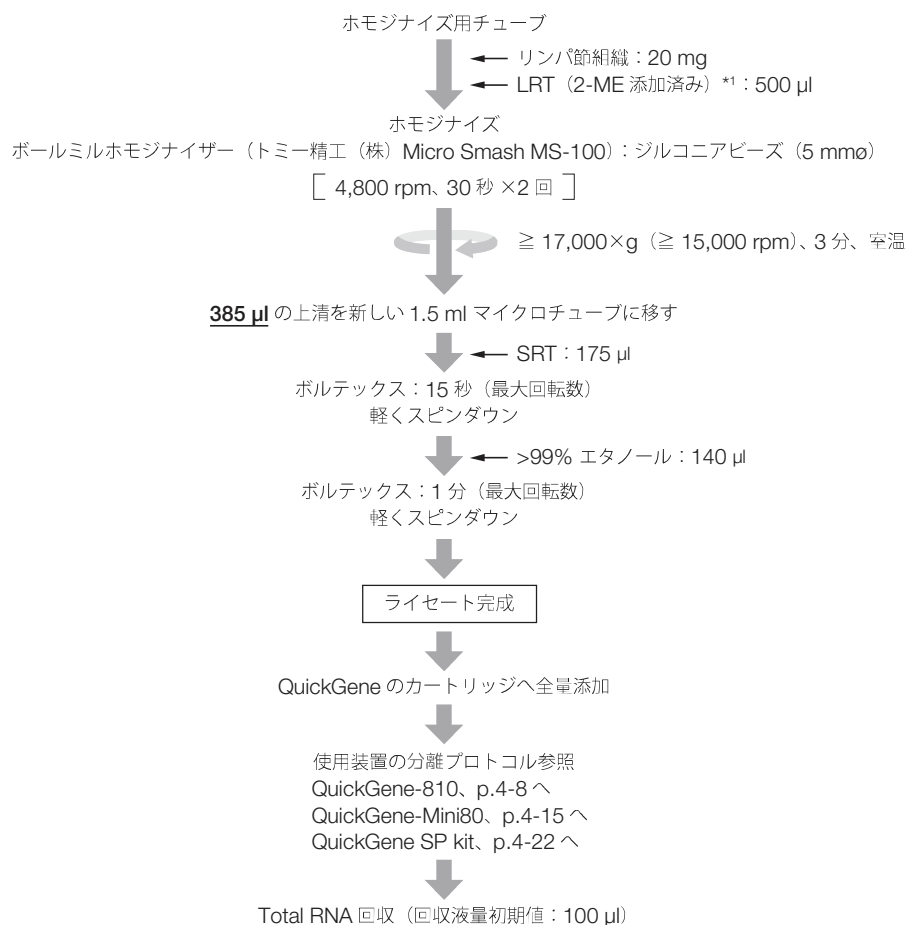
-：ネガティブコントロール（RNase-フリー水）

共通プロトコルサンプル

マウス精巣、マウス肝臓、マウス脳、マウス腎臓、マウス脾臓

マウスリンパ節からの total RNA分離

| プロトコル

*1 1 ml の LRT 当たり 10 μ l の
2-ME を加える。

| 結果

■ 電気泳動図

データなし

■ Total RNA の収量

| リンパ節の量 | 収量 (μ g) |
|--------|---------------|
| 20 mg | 6.8 |

■ タンパク質の混入：A260/280

| リンパ節の量 | A260/280 |
|--------|----------|
| 20 mg | 2.0 |

■ カオトロピック塩の混入：A260/230

データなし

■ その他

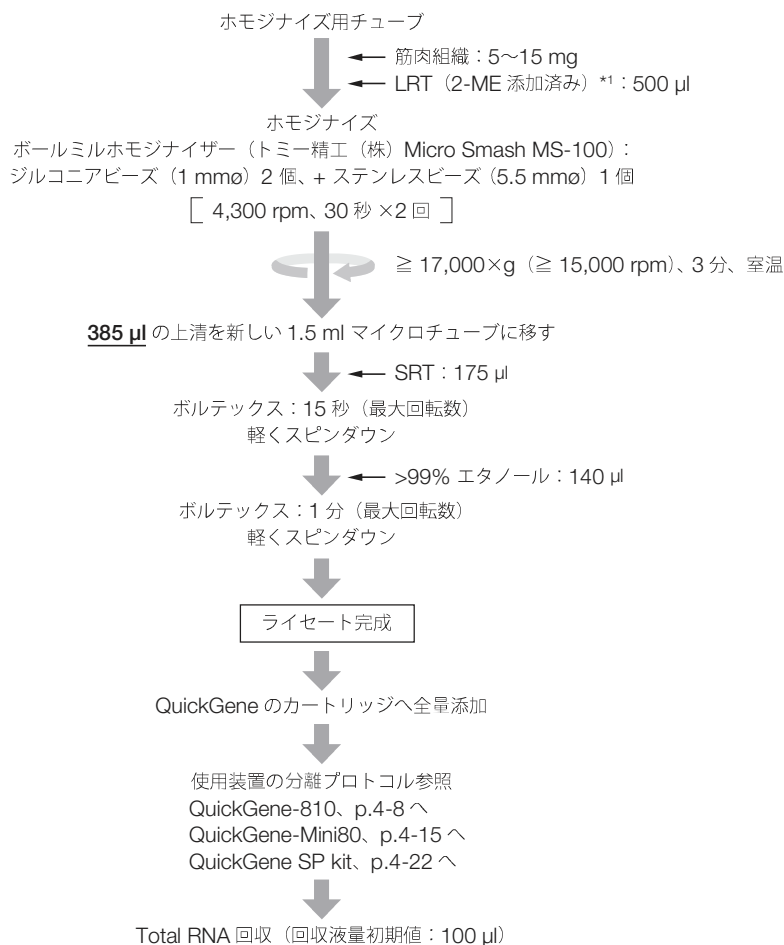
データなし

| 共通プロトコルサンプル

データなし

ラット筋肉からの total RNA分離

プロトコル



*1 1 ml の LRT 当たり 10 µl の 2-ME を加える。

結果

電気泳動図

データなし

Total RNA の収量

| 筋肉の量 | 収量 (µg) |
|--------|---------|
| 8.8 mg | 2.0 |

タンパク質の混入：A260/280

データなし

カオトロピック塩の混入：A260/230

データなし

その他

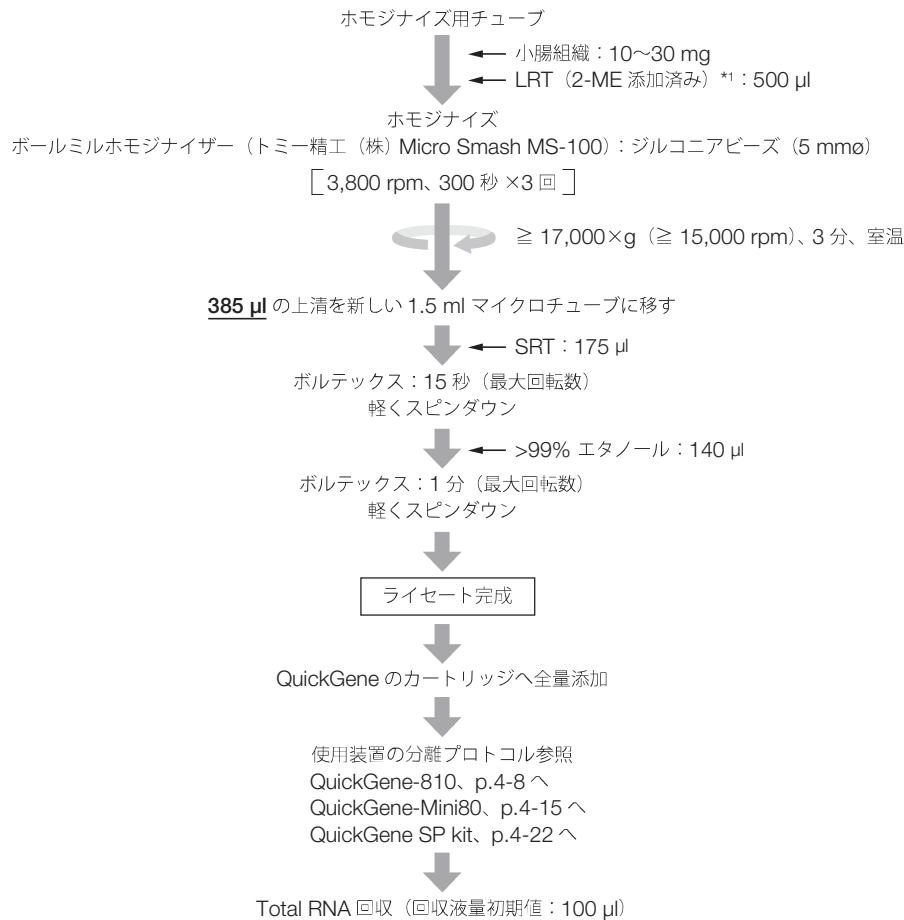
データなし

共通プロトコルサンプル

データなし

マウス小腸からの total RNA分離

■ プロトコル



*1 1 ml の LRT 当たり 10 μ l の 2-ME を加える。

■ 結果

■ 電気泳動図

データなし

■ Total RNA の収量

| 小腸の量 | 収量 (μ g) |
|---------|---------------|
| 14.7 mg | 4.4 |

■ タンパク質の混入：A260/280

| 小腸の量 | A260/280 |
|---------|----------|
| 14.7 mg | 2.01 |

■ カオトロピック塩の混入：A260/230

データなし

■ その他

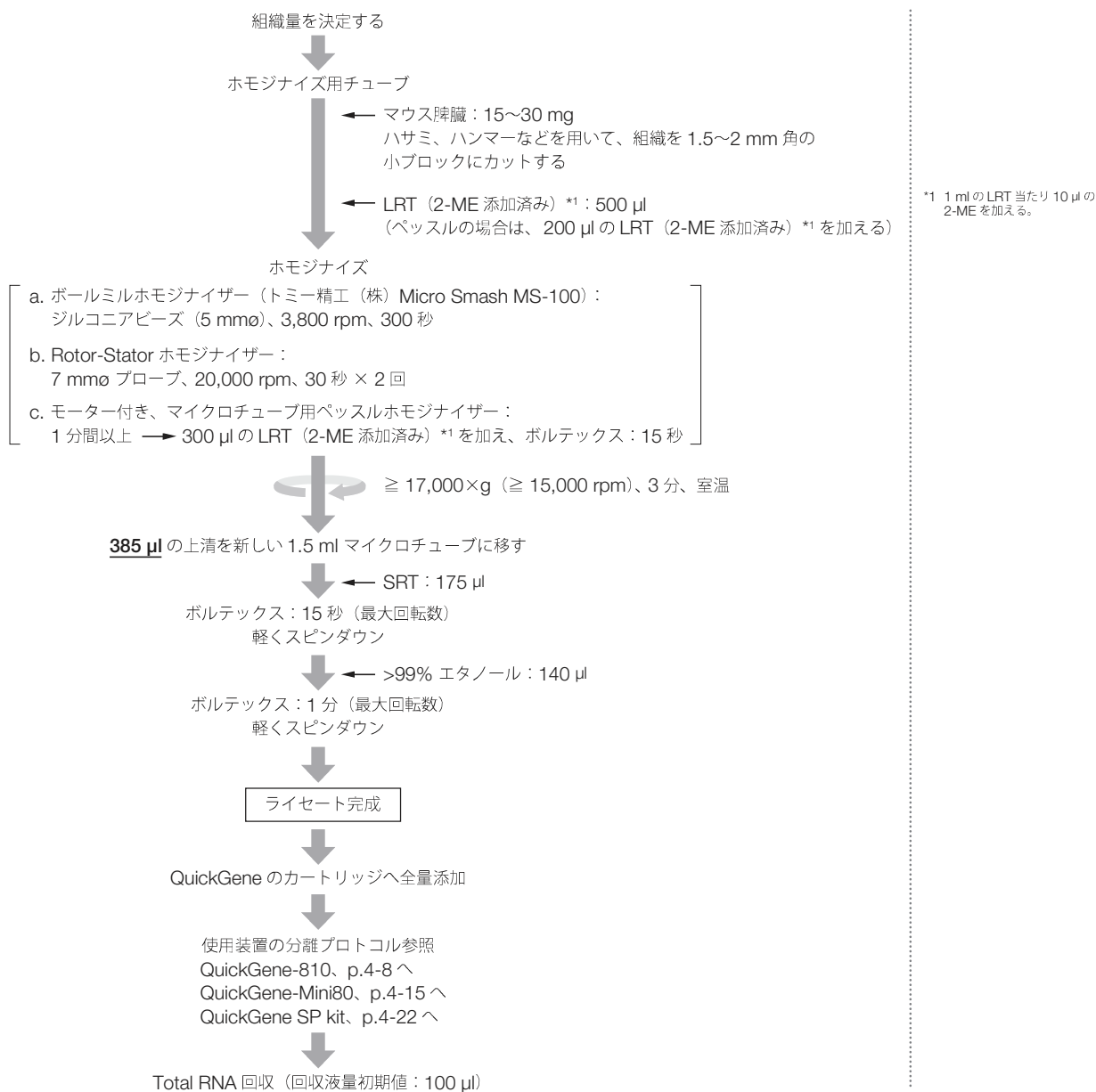
データなし

■ 共通プロトコルサンプル

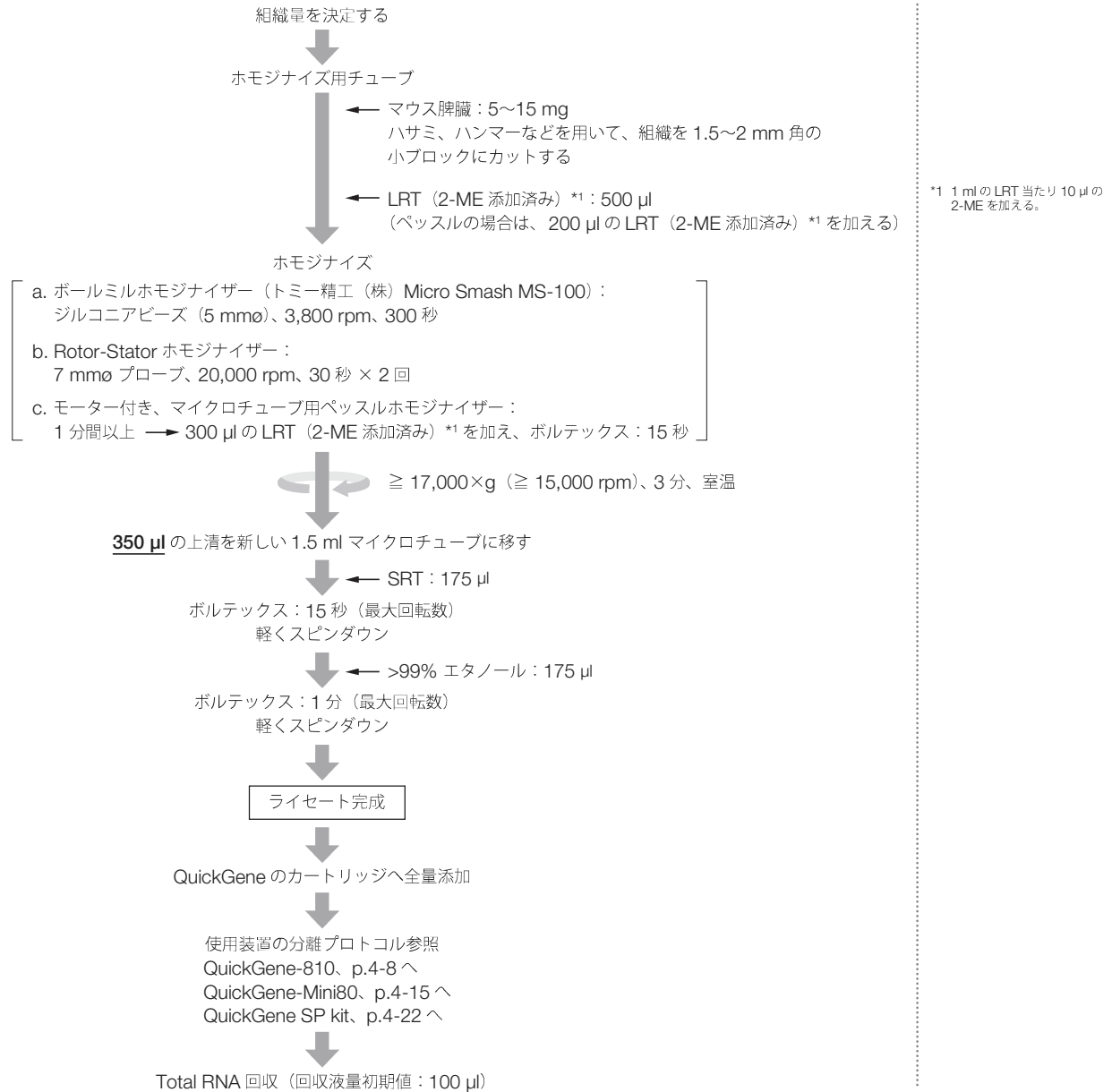
マウス心臓

マウス脾臓からの total RNA分離

プロトコル 1 (15-30 mg)



プロトコル 2 (5-15 mg)

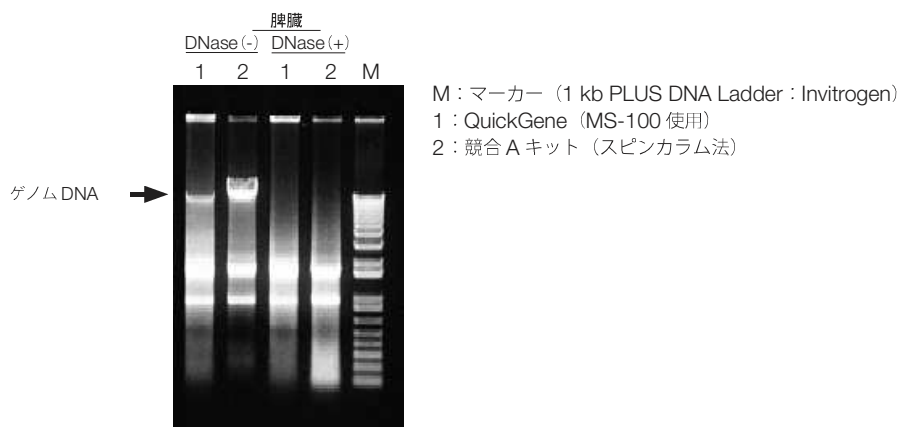


結果

電気泳動図

QuickGene システム（ボールミルホモジナイザー使用）および競合 A キット（スピнкаラム法）を用いて、マウスの脾臓組織から分離した total RNA で非変性アガロースゲル電気泳動を行った。

電気泳動条件：1% アガロース / 1 × TAE



Total RNA の収量

| 組織 | ボールミルホモジナイザー（MS-100） | | | Rotor-Stator ホモジナイザー | | |
|----|----------------------|-----------|-----------|----------------------|-----------|-----------|
| | 組織の量 | DNase (+) | DNase (-) | 組織の量 | DNase (+) | DNase (-) |
| 脾臓 | 30 mg | 48 µg | 54 µg | 20 mg | 32 µg | 31 µg |

タンパク質の混入：A260/280

| 組織 | 組織の量 | A260/280 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 脾臓 | 30 mg | 2.05 | 2.30 |

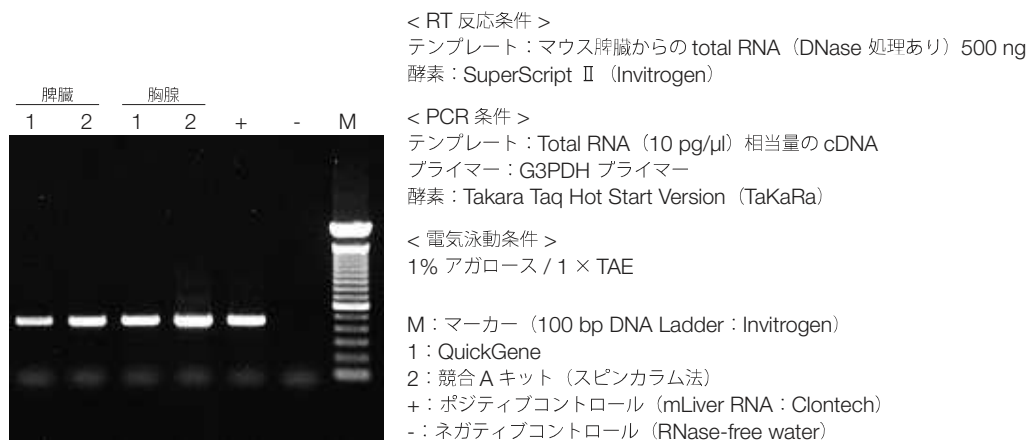
カオトロピック塩の混入：A260/230

| 組織 | 組織の量 | A260/230 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 脾臓 | 30 mg | 2.23 | 2.09 |

その他

● RT-PCR

QuickGene システム（ボールミルホモジナイザー使用）および競合 A キット（スピнкаラム法）を用いて分離した total RNA で RT-PCR を行った。

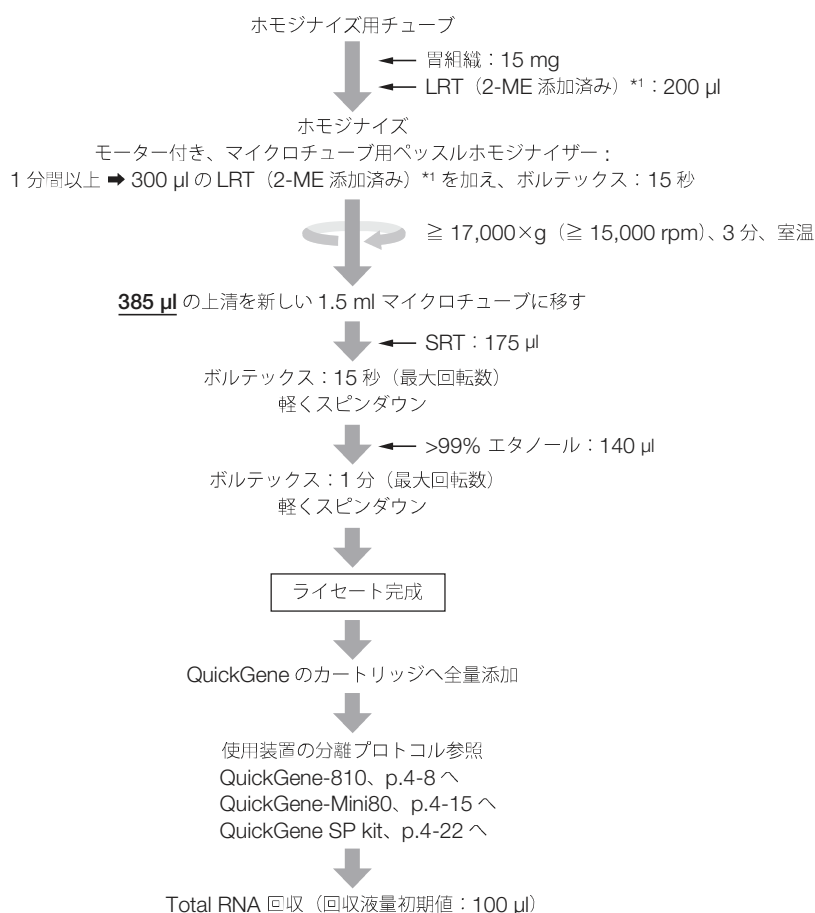


共通プロトコルサンプル

マウス精巣、マウス肝臓、マウス脳、マウス肺、マウス腎臓

ヒトの胃からの total RNA分離

■ プロトコル

*1 1 ml の LRT 当たり 10 μ l の
2-ME を加える。

■ 結果

■ 電気泳動図

データなし

■ Total RNA の収量

| 胃の量 | 収量 (μ g) |
|-------|---------------|
| 15 mg | 2.0 |

■ タンパク質の混入：A260/280

データなし

■ カオトロピック塩の混入：A260/230

データなし

■ その他

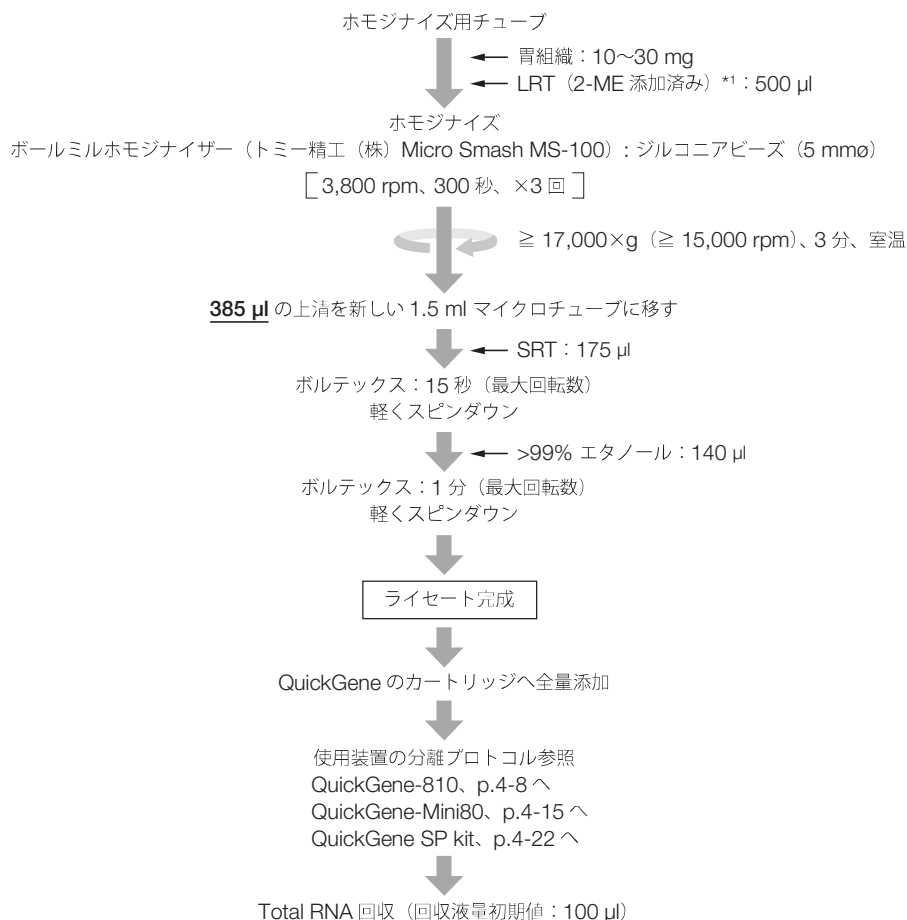
データなし

■ 共通プロトコルサンプル

データなし

マウス胃からの total RNA分離

プロトコル



*1 1 ml の LRT 当たり 10 μ l の 2-ME を加える。

結果

電気泳動図

データなし

Total RNA の収量

| 胃の量 | 収量 (μ g) |
|---------|---------------|
| 11.1 mg | 12.6 |

タンパク質の混入：A260/280

| 胃の量 | A260/280 |
|---------|----------|
| 11.1 mg | 2.06 |

カオトロピック塩の混入：A260/230

データなし

その他

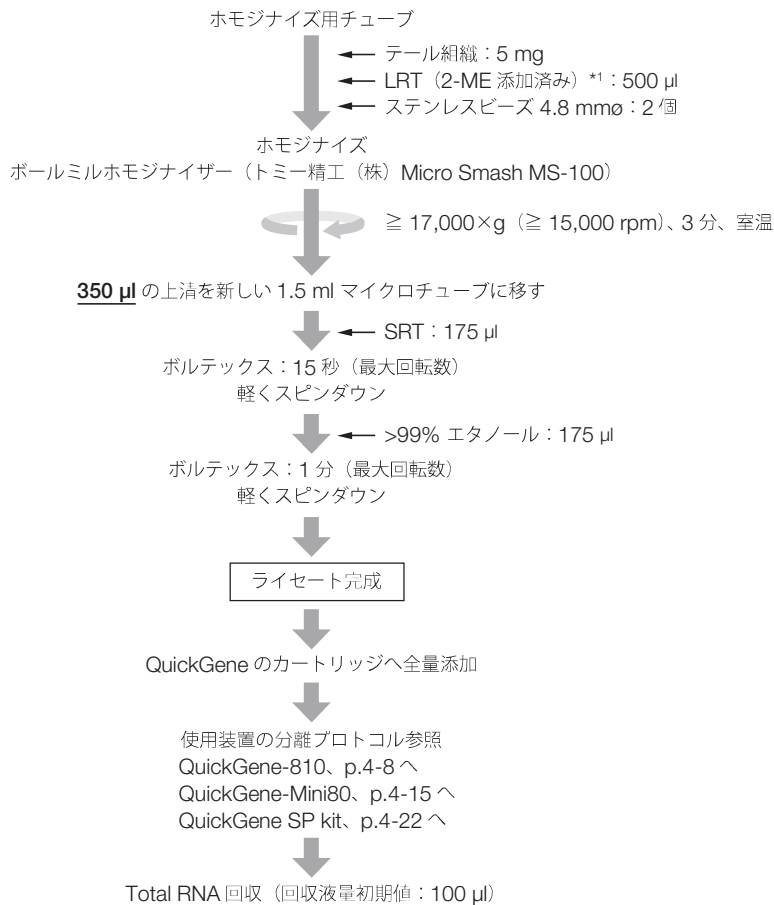
データなし

共通プロトコルサンプル

マウス心臓

マウス尾からの total RNA分離

■ プロトコル

*1 1 ml の LRT 当たり 10 μ l の 2-ME を加える。

■ 結果

■ 電気泳動図

データなし

■ Total RNA の収量

| テールの量 | 収量 (μ g) |
|--------|---------------|
| 約 5 mg | 4.0 |

■ タンパク質の混入：A260/280

| テールの量 | A260/280 |
|--------|----------|
| 約 5 mg | 2.36 |

■ カオトロピック塩の混入：A260/230

データなし

■ その他

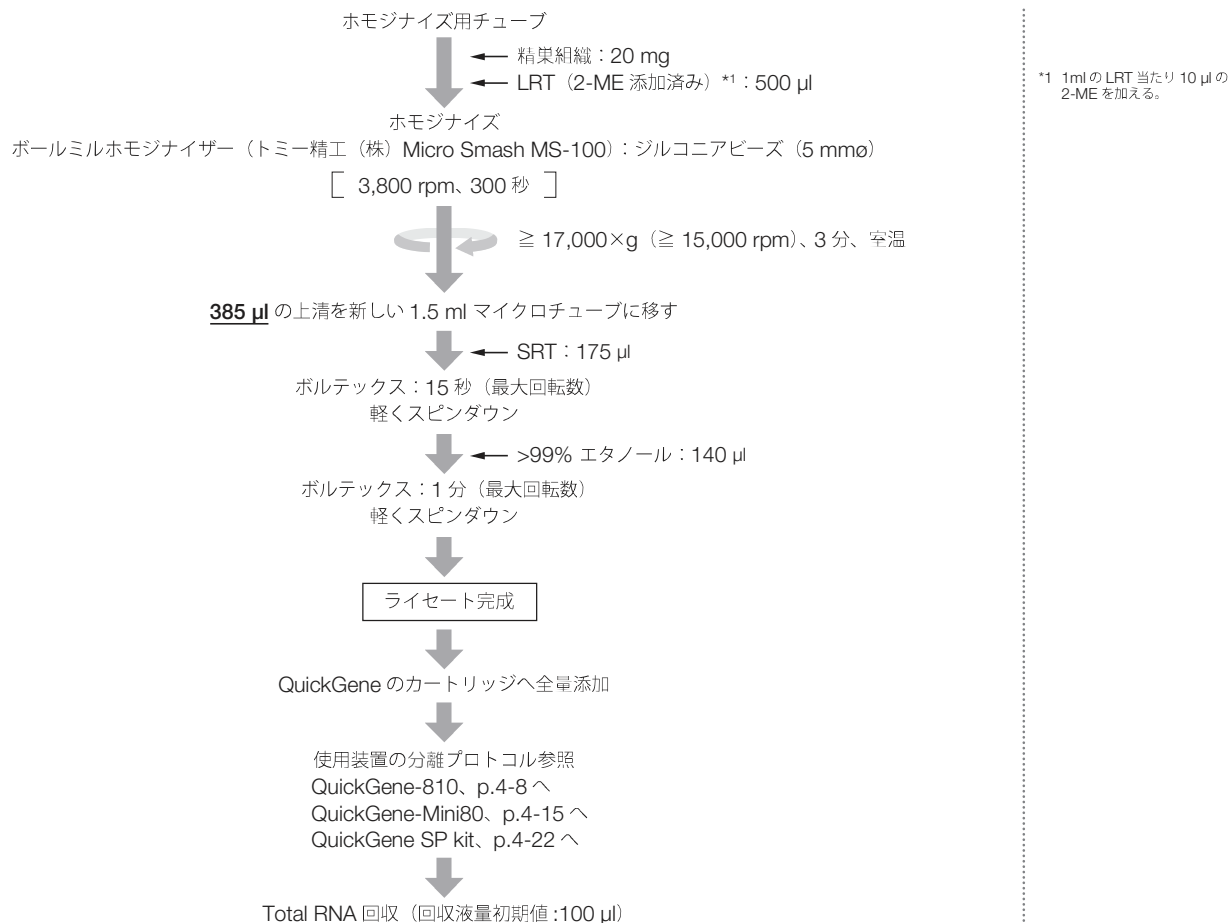
データなし

■ 共通プロトコルサンプル

データなし

マウス精巢からの total RNA分離

プロトコル



結果

電気泳動図

データなし

Total RNA の収量

| 精巣の量 | 収量 (µg) |
|-------|---------|
| 20 mg | 20 |

タンパク質の混入：A260/280

| 精巣の量 | A260/280 |
|-------|----------|
| 20 mg | 2.0 |

カオトロピック塩の混入：A260/230

データなし

その他

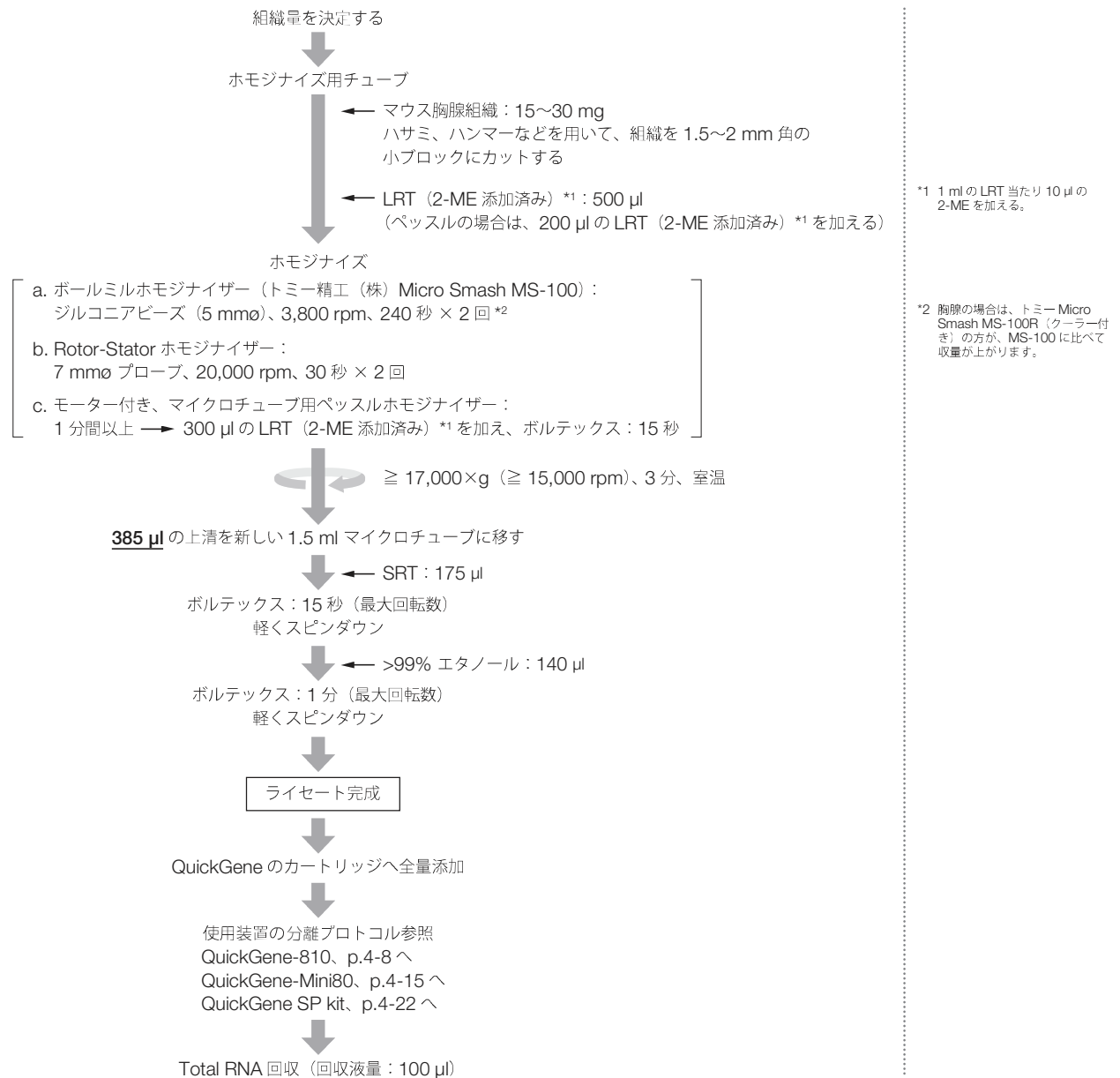
データなし

共通プロトコルサンプル

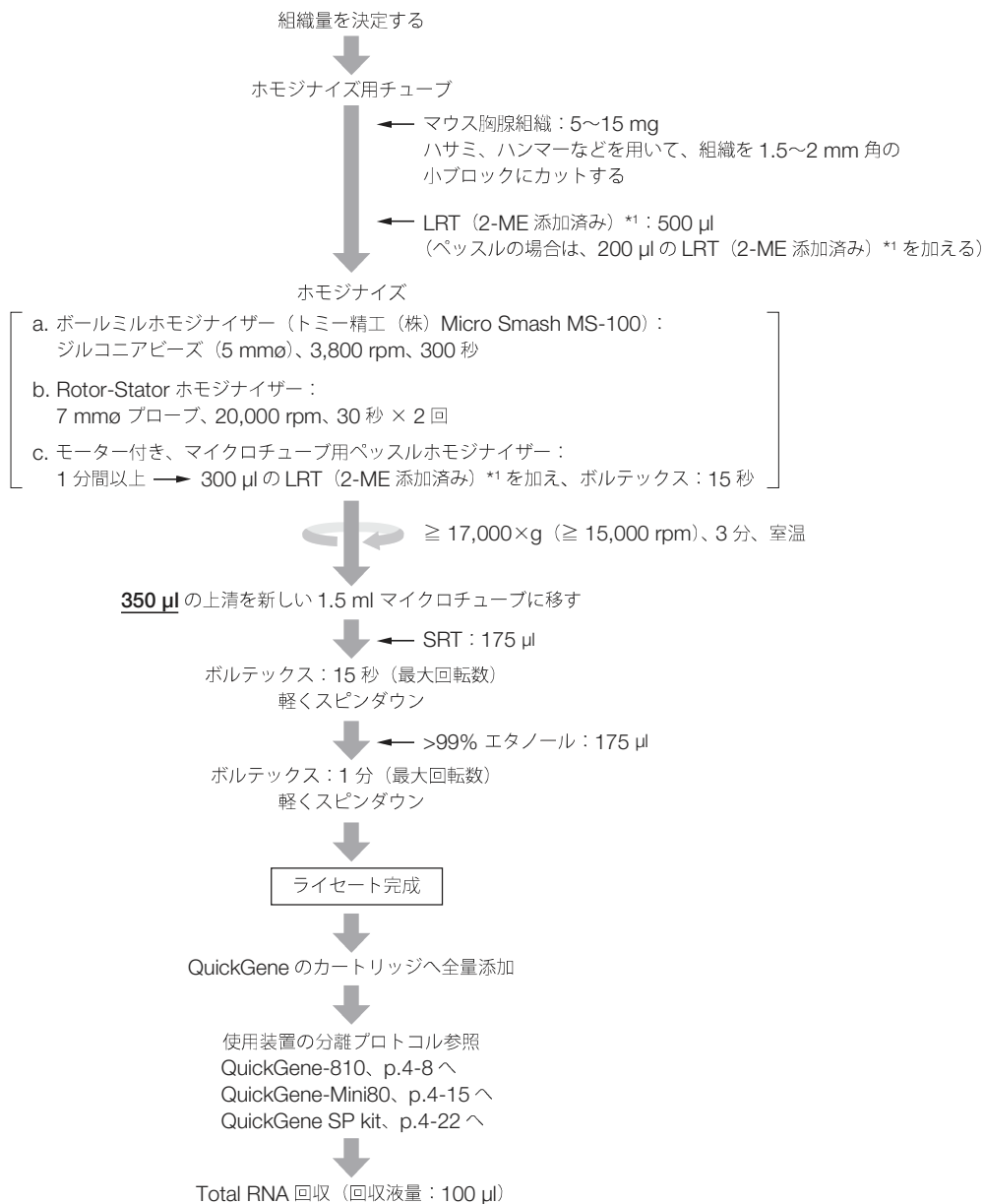
マウス肝臓、マウス脳、マウス肺、マウス腎臓、マウス脾臓

マウス胸腺からの total RNA分離

| プロトコル 1 (15-30 mg)



プロトコル 2 (5-15 mg)

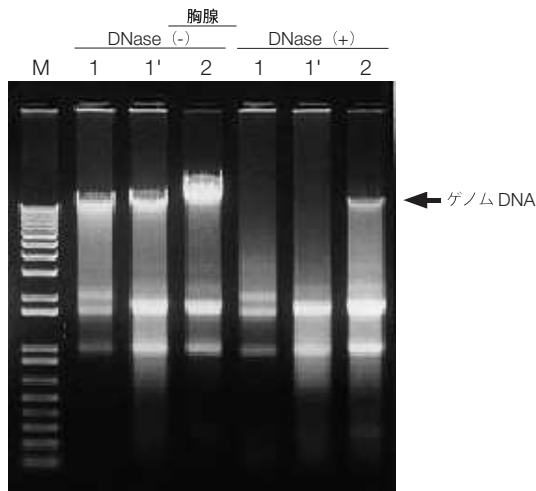


*1 1 ml の LRT 当たり 10 μ l の 2-ME を加える。

結果

電気泳動図

Total RNA で非変性アガロースゲル電気泳動を行った。
電気泳動条件：1% アガロース / 1 × TAE



M：マーカー（1 kb PLUS DNA Ladder：Invitrogen）
1：QuickGene（MS-100 使用）
1'：QuickGene（MS-100R（クーラー付き）使用）
2：競合 A キット（スピнкаラム法）

胸腺などに対して、QuickGene システムで、競合 A キット（スピнкаラム法）の場合よりもゲノム DNA 混入の少ない total RNA の分離ができる。

Total RNA の収量

| 組織 | ボールミルホモジナイザー（MS-100） | | | Rotor-Stator ホモジナイザー | | |
|----|----------------------|-----------|-----------|----------------------|-----------|-----------|
| | 組織の量 | DNase (+) | DNase (-) | 組織の量 | DNase (+) | DNase (-) |
| 胸腺 | 30 mg | 43 µg | 27 µg | 5 mg | 19 µg | 17 µg |

タンパク質の混入：A260/280

| 組織 | 組織の量 | A260/280 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 胸腺 | 30 mg | 2.17 | 2.17 |

カオトロピック塩の混入：A260/230

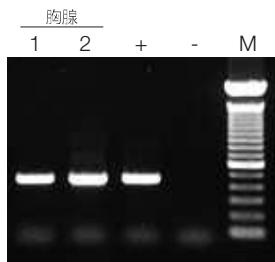
| 組織 | 組織の量 | A260/230 | |
|----|-------|-----------|-----------|
| | | DNase (+) | DNase (-) |
| 胸腺 | 30 mg | 2.15 | 2.17 |

その他

• RT-PCR

Total RNA で RT-PCR を行った。

< RT 反応条件 >
 テンプレート：マウス胸腺からの total RNA（DNase 処理あり）500 ng
 酵素：SuperScript II（Invitrogen）
 < PCR 条件 >
 テンプレート：Total RNA（10 pg/µl）相当量の cDNA
 プライマー：G3PDH プライマー
 酵素：Takara Taq Hot Start Version（TaKaRa）
 < 電気泳動条件 >
 1% アガロース / 1 × TAE



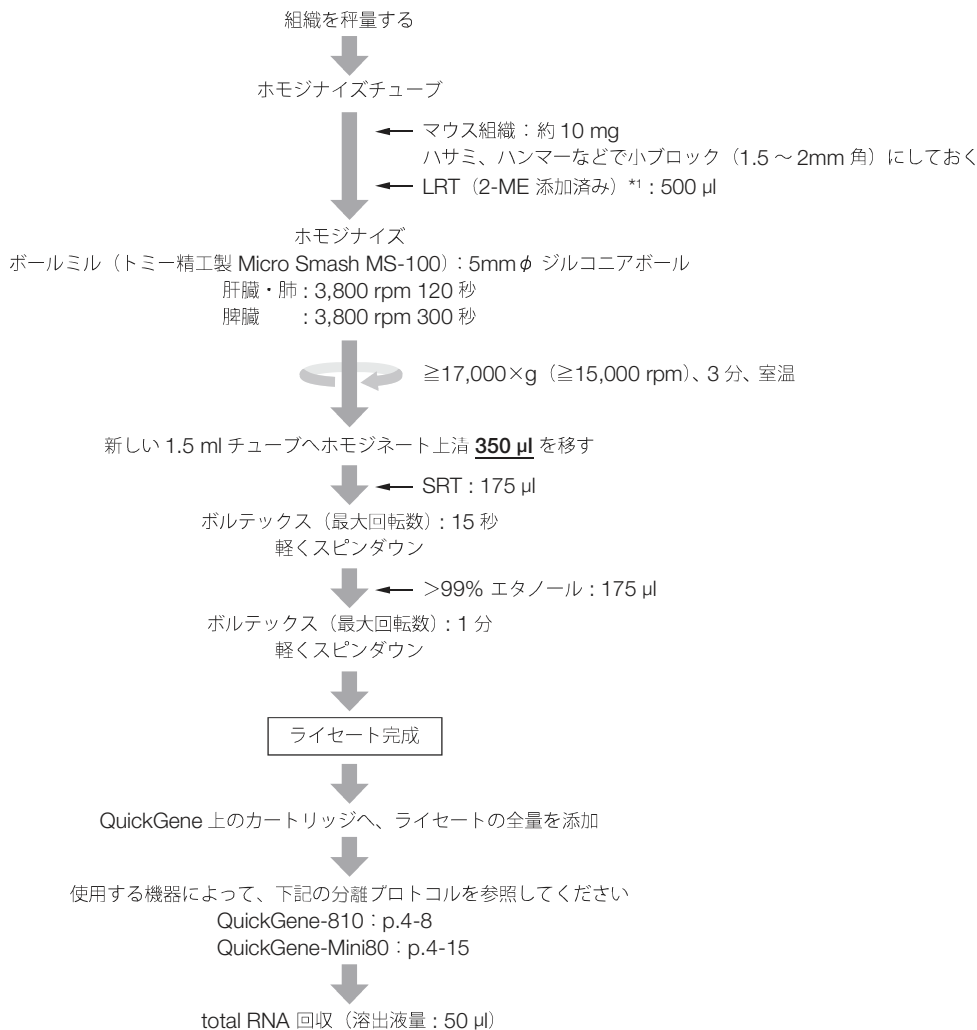
M：マーカー（100 bp DNA Ladder：Invitrogen）
 1：QuickGene
 2：競合 A キット（スピнкаラム法）
 +：ポジティブコントロール（mLiver RNA：Clontech）
 -：ネガティブコントロール（RNase-free water）

共通プロトコルサンプル

データなし

DNA チップ“ジェノパール®”のためのマウス組織からの total RNA分離

プロトコル

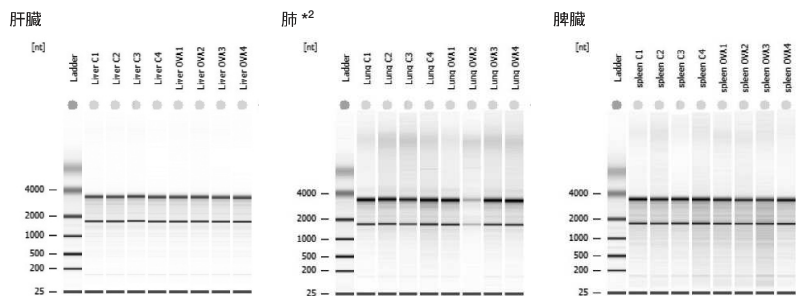


*1 1 ml の LRT に対して、10 µl の 2-ME を添加してください

結果

電気泳動図

QuickGene システム（ボールミル型ホモジナイザー使用）を用いて各マウス組織から total RNA を分離した。



2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Inc.)

*2 2 サンプル分を分離し、あわせた後、濃縮した結果

※ “ジェノパール®” は、三菱レイヨン株式会社の登録商標です。

total RNA の収量

| 組織 | 収量 (μg) | | | | | | | |
|------|---------|------|------|------|------|------|------|------|
| | C1 | C2 | C3 | C4 | OVA1 | OVA2 | OVA3 | OVA4 |
| 肝臓 | 65.9 | 56.2 | 59.5 | 72.2 | 63.0 | 50.6 | 69.7 | 96.1 |
| 肺 *3 | 10.6 | 5.1 | 4.9 | 8.1 | 9.3 | 2.5 | 6.2 | 6.2 |
| 脾臓 | 33.2 | 23.6 | 40.8 | 30.0 | 27.6 | 24.5 | 32.2 | 47.4 |

*3 2 サンプル分を分離し、あわせて後、濃縮した結果

タンパク質の混入：A260/280

データなし

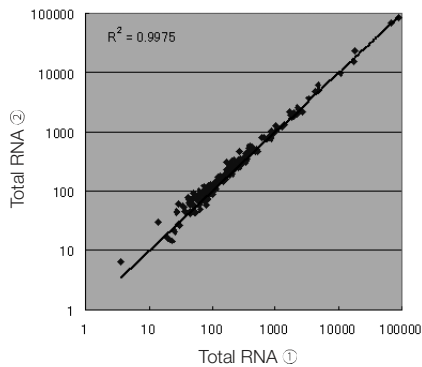
カオトロピック塩の混入：A260/230

データなし

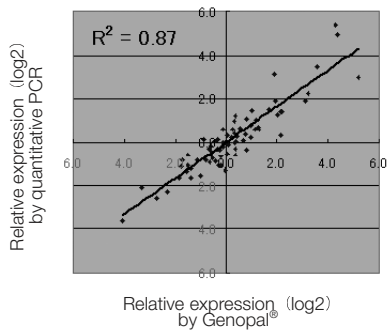
その他

● “ジェノパール®” 解析

マウス 209 遺伝子を搭載した三菱レイヨン製マウス版アレルギーチップ ARIM-GX を用いて、標準プロトコルに従って、マウス各サンプルの各遺伝子の蛍光強度を測定し、各群間の発現差 (log2 ratio) を算出した。



同一の組織サンプルからそれぞれ分離した total RNA を用いて調製した aRNA の “ジェノパール®” による解析データは、高い再現性を示した ($R^2=0.99$ 以上)。



アレルギーチップ “ジェノパール®” と定量 PCR により得られた発現差の数値データ (log2 ratio) は、高い相関を示した ($R^2=0.87$)。

共通プロトコルサンプル

データなし

※ “ジェノパール®” は、三菱レイヨン株式会社の登録商標です。

